

Anorexia Nervosa: O impacto no metabolismo ósseo nas mulheres

Matilde Barreto de Sá e Sousa

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(mestrado integrado)

Orientadora: Professora Doutora Maria Elisa Cairrão Rodrigues Oliveira
Coorientador: Mestre Rui Filipe Ribeiro de Barros

Covilhã, fevereiro de 2024

Declaração de Integridade

Eu, Matilde Barreto de Sá e Sousa, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 41627 do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referência de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã, 01 /02 /2024

Matilde Barreto de Sá e Sousa

Agradecimentos

Em primeiro lugar, é da mais elementar justiça expressar o meu mais que sincero agradecimento aos meus pais e irmãos por toda a força que sempre me transmitiram durante todo este processo. Nem sempre foi fácil, pois não só de vitórias é feita a vida. Porém, em todos os momentos chave, positivos e menos positivos, eles estiveram presentes na ajuda. Revelaram-se incansáveis no apoio prestado e no apresentar de uma palavra amiga e positiva sempre que necessária.

Por fim, e como não podia deixar de ser, quero agradecer à minha orientadora, a Prof. Doutora Elisa Oliveira por ter aceitado colaborar comigo neste projeto e por ter demonstrado prontidão, disponibilidade e orientação sempre pautados pelo rigor e por uma enorme transmissão de conhecimentos.

Resumo

Introdução: Anorexia nervosa (AN) é uma doença do foro psiquiátrico que afeta predominantemente o sexo feminino numa relação de 9 por cada 10 casos. Tendo em conta a epidemiologia desta perturbação, que se inicia principalmente na adolescência, torna-se essencial perceber, não só os efeitos nefastos imediatos, mas também os que aportam consequências para a vida adulta. Face a esta problemática é de salientar que a perda de densidade mineral óssea (DMO) é uma das consequências não reversíveis da AN, sendo das mais impactantes por ocorrer logo na fase precoce da doença. Neste sentido, é importante inferir os efeitos no metabolismo ósseo e o papel das hormonas neste processo de modo a perceber quais os riscos futuros de alguém que padece desta perturbação, possibilitando uma investigação e intervenção adequada e atempada. Assim, este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre o possível impacto da AN no metabolismo ósseo.

Metodologia: Através da base eletrónica PubMed/MEDLINE foi feita uma pesquisa e selecionados artigos entre 2013 e 2023 em inglês. Os termos da pesquisa foram: “anorexia” and “bone metabolism”. Os critérios de inclusão utilizados foram: artigos em inglês; artigos originais; artigos publicados nos últimos 10 anos (entre 2013-2023); população do estudo contendo indivíduos do sexo feminino com AN, sem serem aplicadas restrições quanto à idade.

Os critérios de exclusão utilizados foram: artigos que incidem maioritariamente sobre outras patologias que não a AN; artigos que incidiam maioritariamente sobre o tratamento da AN; artigos sem acesso; artigos publicados fora do intervalo de pesquisa. Adicionalmente, para a elaboração do tópico 5.4. “Importantes adaptações hormonais na AN” foram também incluídos artigos de revisão, uma vez que, as informações referentes a algumas hormonas já haviam sido amplamente discutidas.

Resultados e Conclusões: De uma forma geral, existe uma forte correlação entre a AN e o metabolismo ósseo. Importa aprofundar os conhecimentos adquiridos até à data relativamente a esta temática na tentativa de prevenir o impacto negativo da AN no tecido ósseo. Note-se que os efeitos na DMO são uma das consequências não reversíveis da AN, sendo das mais impactantes por ocorrer logo na fase precoce da doença.

Palavras-chave

Anorexia Nervosa; Osso; Metabolismo; Osteoporose; Estradiol; Fratura.

Abstract

Introduction: AN is a psychiatric disorder that predominantly affects females in a ratio of 9 out of every 10 cases. Considering the epidemiology of this disorder, which begins mainly in adolescence, it is essential to understand not only the immediate harmful effects, but also those that have consequences in adulthood. In light of this problem, it is known that the loss of bone mineral density (BMD) is one of the non-reversible consequences of AN, being one of the most impactful as it occurs at an early stage of the disease. In this sense, it is important to infer the effects of bone metabolism and the role of hormones in this process in order to understand the future risks of someone suffering from this condition enabling adequate and timely investigation and intervention. Therefore, this work aims to carry out a literature review on the possible impact of AN in bone metabolism.

Material and methods: A research was carried out using the PubMed/MEDLINE electronic database and articles were selected between 2013 and 2023 in English. The search terms were: “anorexia” and “bone metabolism”.

The inclusion criteria for this study were: articles in english; original articles; articles published in the last 10 years (between 2013-2023); study population containing female individuals with AN, without being applied age restrictions.

The exclusion criteria were: articles that focused on pathologies other than AN; articles that focused mainly on AN treatment; articles without access; articles published outside search range.

Additionally, for the elaboration of the topic 5.4. “Importantes adaptações hormonais na AN” review articles were also included, since the information regarding some hormones had already been widely discussed.

Results/Conclusions: Generally, there is a strong correlation between AN and bone metabolism. It is important to deepen the knowledge acquired to date regarding this topic in an attempt to prevent the negative impact of AN in bone tissue. It should be noted that the effects on BMD are one of the non-reversible consequences of AN, being one of the most impactful as they occur at an early age of the disease.

Keywords

Anorexia Nervosa; Bone; Metabolism; Osteoporosis; Estradiol; Fracture.

Índice

Agradecimentos.....	v
Resumo.....	vii
Abstract.....	ix
Lista de Tabelas.....	xiv
Lista de Acrónimos.....	xvi
1. Introdução.....	1
1.1. Objetivos.....	1
2. Anorexia Nervosa (AN).....	3
2.1. Características gerais da AN.....	3
2.2. Critérios de diagnóstico.....	3
2.3. Subtipos da AN.....	4
3. Metabolismo Ósseo.....	5
4. Métodos.....	8
5. Efeitos da AN no metabolismo ósseo.....	9
5.1. O papel das citocinas no metabolismo ósseo na AN.....	9
5.2. Marcadores ósseos e a via Wnt na AN.....	10
5.3. A influência das principais adipocinas na AN.....	12
5.4. Importantes adaptações hormonais na AN.....	13
5.4.1. Amenorreia hipotalâmica (AH) funcional.....	13
5.4.2. Hormona do crescimento (GH), IGF-1 e FGF-21.....	14
5.4.3. Hormonas do apetite (leptina, grelina, PYY)	15
5.4.4. Cortisol.....	16
5.4.5. O papel da serotonina e os efeitos do uso de inibidores de recaptção de serotonina (ISRS).....	16
5.5. O stress oxidativo na AN.....	17
5.6. O gasto de energia em repouso, vitamina D e PTH.....	18
6. Tratamento e Prevenção.....	23
7. Conclusão.....	24
8. Referências Bibliográficas.....	25

Lista de Tabelas

Tabela 1. –Artigos originais incluídos.

Lista de Acrónimos

Acrónimos	Inglês	Português
AGEs	Advanced Glycation End-products	Produtos Finais da Glicação Avançada
AH	Hypothalamic Amenorrhea	Amenorreia Hipotalâmica
AN	Anorexia Nervosa	Anorexia Nervosa
AN-BP	Anorexia Nervosa - Binge-Purge subtype	Anorexia Nervosa - Subtipo purgativo/compulsivo
AN-R	Anorexia Nervosa - Restricting subtype	Anorexia Nervosa - Subtipo Restritivo
CEMs	Mesenchymal Stem Cells	Células Estaminais Mesenquimais
CTX	C-terminal telopeptide	Telopéptido C-terminal
DHEA	Dehydroepiandrosterone	Dehidroepiandrosterona
DKK1	Dickkopf-1	Dickkopf-1
DMO	Bone Mineral Density	Densidade Mineral Óssea
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos
E2	Estradiol	Estradiol
FGF-21	Fibroblast Growth Factor 21	Fator de Crescimento Fibroblástico 21
FLI	Free Leptin Index	Índice de Leptina Livre
GDF	Growth Differentiation Factor	Fator de Diferenciação de Crescimento
GER	Resting Energy Expenditure	Gasto Energético em Repouso
GGH	Reduced Glutathione	Glutathione Reduzida
GH	Growth Hormone	Hormona do Crescimento
GHRH	GH Releasing Hormone	Hormona Libertadora da GH
GSH	Glutathione	Glutathione
GSSG	Oxidized Glutathione	Glutathione Oxidada
GGH/GSSG	Reduced and Oxidized GSH Ratio	Rácio GSH Reduzida e Oxidada
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone	Hormona Libertadora de Gonadotrofina

HSCs	Hematopoietic Stem Cells	Células Tronco Hematopoiéticas
IGF-I	Insulin-like Growth Factor I	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina I
IL	Interleukin	Interleucina
IMC	Body Mass Index	Índice de Massa Corporal
ISRS	Selective Serotonin Reuptake Inhibitors	Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina
OPG	Osteoprotegerin	Osteoprotegerina
OC	Osteocalcin	Osteocalcina
P1NP	Procollagen Type I N-Terminal Propeptide	N-propéptido de colagénio tipo I
PMO	Bone Matrix Proteins	Proteínas da Matriz Óssea
Pref-1	Preadipocyte Factor 1	Fator Pré-Adipócito 1
PTH	Parathyroid Hormone	Hormona da Paratiróide
PYY	Peptide YY	Péptido YY
RANK	Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B	Recetor Ativador do Fator Nuclear Kappa-B
RANKL	Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand	Ligante do Recetor Ativador do Fator Nuclear Kappa-B
ROS	Reactive Oxygen Species	Espécies Reativas de Oxigênio
SNS	Sympathetic Nervous System	Sistema Nervoso Simpático
SOST	Sclerostin	Esclerostina
TA	Adipose Tissue	Tecido Adiposo
TNF	Tumor Necrosis Factor	Fator de Necrose Tumoral
TRP	Tryptophan	Triptofano
TGF- β	Transforming Growth Factor beta	Fator de Crescimento Transformador beta
WB-FT	Whole-Body Fat Mass	Massa Gorda Corporal Total
5-HT	Serotonin Receptors	Recetores de Serotonina

1. Introdução

A Anorexia nervosa (AN), é uma doença do foro psiquiátrico caracterizada por um baixo peso corporal devido a uma subnutrição autoinduzida (1). Esta doença afeta predominantemente o sexo feminino numa relação de 9 por cada 10 casos (2). A AN é uma condição que tipicamente surge durante a adolescência, mas é importante notar que, devido à sua complexidade, as taxas de recuperação a longo prazo são notavelmente baixas. Isto significa que a AN muitas vezes persiste até à fase adulta (1). Trata-se de uma condição de baixo peso severo que está associada a um menor índice de massa óssea, estrutura óssea comprometida e a reduzida resistência óssea que contribuem para um risco maior de fratura (3).

Tendo em conta que a AN é um estado de balanço energético negativo (devido à diminuição do aporte energético) (4), ocorrem alterações hormonais acentuadas em quase todos os eixos endócrinos, sendo a maioria destas alterações adaptativas, ajudam a conservar energia para as funções vitais, estimulam a ingestão de alimentos ou mantêm a euglicémia servindo para diminuir este mesmo gasto energético (3). Por outro lado, estas alterações hormonais contribuem, conseqüentemente, para a perda óssea nesta doença (4).

A AN tem impacto no metabolismo ósseo não só pela adaptação hormonal mas também por induzir a produção de citocinas pró-inflamatórias, adipocinas e por aumentar a sensibilização para a reabsorção óssea através dos marcadores/via Wnt.

Uma vez que a maior parte da massa óssea é alcançada no final do crescimento longitudinal de um indivíduo, acautelar uma normal densidade mineral óssea (DMO) e pico de massa óssea deverá ser uma prioridade ao lidar com adolescentes. A sua acumulação no esqueleto durante a infância/adolescência é um fator essencial para determinar o risco de osteoporose. Conseqüentemente, sendo a nutrição um dos fatores com maior impacto nesta dinâmica importa atuar ativamente nas estratégias de prevenção relativas a este fator nestas idades (5).

1.1. Objetivos

O objetivo principal do presente trabalho é fazer uma revisão da literatura sobre os mais recentes desenvolvimentos acerca da íntima relação entre a anorexia nervosa e o

metabolismo ósseo nas mulheres. Tendo em conta a epidemiologia desta perturbação, que se inicia principalmente na adolescência, torna-se essencial perceber, não só os efeitos nefastos imediatos, mas também os que aportam consequências para a vida adulta.

2. Anorexia Nervosa

2.1. Características gerais da AN

A AN é um transtorno alimentar de origem multifatorial. A sua prevalência em jovens do sexo feminino é de aproximadamente 0,4% por ano (2, 6).

A AN começa, tendencialmente, no início ou a meados da adolescência, embora possa surgir em qualquer idade. As mulheres tendem a ser mais afetadas do que os homens. Em crianças, a distribuição por sexo é menos tendenciosa. Os resultados variam conforme os grupos etários, com taxas mais altas de recuperação completa e menor mortalidade em adolescentes do que em adultos (mortalidade média de 2% vs. 5%). Adicionalmente, a amenorreia deixou de ser um parâmetro obrigatório nos novos critérios de diagnóstico do DSM-5. As principais razões para eliminar este critério são baseadas em conflitos com a inclusão de indivíduos do sexo masculino, adolescentes que ainda não alcançaram a menarca, e mulheres que usam hormonas exógenas, nos critérios de diagnóstico. Esta mudança também se baseia num grande corpo de evidências acumuladas, que não mostraram diferença clínica significativa entre mulheres com AN que menstruam e aquelas que não o fazem (7).

2.2. Critérios de diagnóstico

A AN é uma doença psicológica com graves consequências físicas. De acordo com os critérios do DSM-V (Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5ª edição) da Associação Americana de Psiquiatria para diagnosticar esta doença o indivíduo deve apresentar:

- (1) Restrição da ingestão calórica face às necessidades, levando a um peso corporal significativamente baixo no contexto de idade, género, trajetória do desenvolvimento e saúde física. Peso significativamente baixo define-se como um peso inferior ao peso mínimo normal ou, no caso de crianças e adolescentes, menor do que o minimamente esperado.
- (2) Medo intenso de ganhar peso/engordar, ou comportamento persistente que interfere no ganho de peso, mesmo estando com peso significativamente baixo.
- (3) Perturbação no modo como o próprio peso ou a forma corporal são vivenciados, influência indevida do peso ou da forma corporal na autoavaliação ou ausência persistente de reconhecimento da gravidade do baixo peso corporal atual.

2.3. Subtipos de AN

Segundo a DSM-V, a AN subdivide-se em 2 principais subtipos (2):

Anorexia nervosa restritiva, AN-R: durante os últimos três meses a perda de peso é conseguida essencialmente por meio de dieta, jejum e/ou exercício físico excessivo;

Anorexia nervosa com episódios de compulsão alimentar purgativa, AN-BP (binge purging type): nos últimos três meses, o indivíduo revela episódios recorrentes de compulsão alimentar purgativa (i.e., vômitos autoinduzidos ou uso indevido de laxantes, diuréticos ou enemas).

A alternância entre os subtipos ao longo do curso do transtorno não é infrequente, logo, a descrição do subtipo deverá ser usada para indicar os sintomas atuais e não o curso longitudinal (2).

Em todos os subtipos de AN a redução do aporte energético induz a uma desregulação central no controle da homeostase energética e a uma série de alterações metabólicas que levam a complicações em quase todos os órgãos do corpo. Destaca-se que é observada com frequência DMO baixa, com áreas específicas de osteopenia ou osteoporose, sendo o risco de fratura significativamente maior (2).

Cada tipo de AN tem um perfil específico em termos de história de peso, curso da doença, hiperatividade, composição corporal e gasto de energia em repouso (GER), sendo que as reservas energéticas e o metabolismo ósseo estão fortemente interdependentes (6).

3. Metabolismo Ósseo

O osso é um órgão rígido que constitui parte do endosqueleto dos vertebrados. Desempenha múltiplas funções: fornece suporte mecânico para articulações e tendões, protege os tecidos moles ou vários órgãos de stress mecânico ou trauma, armazena minerais, gera células hematopoiéticas e produz hormonas (8).

Recentemente, o osso foi considerado um órgão endócrino que contribui para a regulação do metabolismo da glucose e do gasto energético, sendo que o processo de remodelação óssea é energeticamente dispendioso e influenciado pela disponibilidade energética do organismo (9).

A remodelação óssea é um processo que dura toda a vida, no qual o tecido ósseo maduro é removido do esqueleto (um processo designado por reabsorção óssea) e é gerado novo tecido ósseo (um processo designado por formação óssea). Um desequilíbrio entre a reabsorção e a formação resulta em variadas doenças ósseas metabólicas. As células responsáveis pela formação óssea são conhecidas como osteoblastos, que segregam osso novo, e as células responsáveis pela reabsorção óssea são conhecidas como osteoclastos, que decompõem o osso. Os osteoblastos surgem a partir de células estaminais mesenquimais (CEMs) localizadas na medula óssea, e os osteoclastos são gerados a partir de células estaminais hematopoiéticas (HSCs) (8).

As CEMs são multipotentes e, além de osteoblastos, podem originar vários outros tipos de células distintas, incluindo adipócitos. A diferenciação adipogénica tem relevância particular para a homeostase óssea, já que células em processo de osteoblastogénese podem ser desviadas para se tornarem adipócitos, resultando na perda dessas células do *pool* de osteoblastos e diminuindo o potencial de formação óssea global. Além da potencial redução prejudicial no número de osteoblastos, os adipócitos secretam uma variedade de moléculas sinalizadoras biologicamente ativas que também podem afetar a homeostase óssea. Várias dessas moléculas, incluindo quemerina, vaspina (10), omentina-1 (11), resistina, visfatina, leptina (4) e adiponectina foram relatadas como influenciadoras no desenvolvimento e função de osteoblastos e osteoclastos. Entre os destinos de diferenciação das CEMs da medula óssea, a adipogénese e a osteoblastogénese são as mais intimamente relacionadas e desempenham um papel importante na regulação da homeostase da massa óssea. Além do impacto da diferenciação adipocitária, a libertação de citocinas pró-inflamatórias e outras proteínas sinalizadoras por adipócitos maduros podem também afetar a homeostase óssea (12).

A remodelação começa com a libertação de citocinas dos precursores dos osteoblastos, levando ao recrutamento de precursores dos osteoclastos, que se diferenciam em osteoclastos multinucleados e subsequentemente fixam-se à superfície óssea. A reabsorção da matriz esquelética liberta fatores de crescimento como o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) e o fator de crescimento transformador- β (TGF- β), que recrutam células de revestimento e precursores de osteoblastos iniciais que acabam por formar novo osso (13).

Este processo de remodelação óssea é importante para que ocorra renovação contínua do osso cortical e trabecular ao longo da vida, permitindo o reparo de microtraumas, preservação da homeostase mineral e garantias da competência mecânica através da modificação da microarquitetura (13).

Suplementos de cálcio, vitamina D e proteínas têm influência na estrutura óssea, pois afetam a remodelação. A presença de cálcio e de vitamina D inibem a reabsorção óssea, ao passo de que as proteínas estimulam a formação óssea. A vitamina D aumenta a absorção de cálcio e fosfato no intestino, sendo que estes elementos são essenciais para uma mineralização adequada da matriz óssea recém-formada (13).

Evidências recentes destacam o papel do sistema ligante do recetor ativador do fator nuclear $\kappa\beta$ (RANKL)/RANK/osteoprotegerina (OPG) na reabsorção óssea. O RANKL (receptor activator of nuclear factor- $\kappa\beta$ ligand) é expresso por osteoblastos e estimula a diferenciação e ativação dos osteoclastos, inibindo a apoptose dos osteoclastos. A OPG atua como um “decoy receptor”, um recetor que atrai moléculas específicas mas não desempenha a função biológica normal do recetor, retém o RANKL e impede que este afete os osteoclastos (14, 15).

A sinalização canónica WNT afeta toda a linhagem osteoblástica. A sinalização WNT reprime o compromisso das CEMs com as linhagens da condrogénese e da adipogénese e aumenta o compromisso e a diferenciação ao longo da linhagem osteoblástica. A sinalização WNT- β -catenina dos osteoblastos e osteócitos também reprime indiretamente a diferenciação dos osteoclastos e a reabsorção óssea através do aumento da secreção de OPG. No entanto, os osteoclastos e os seus precursores também são diretamente afetados pelos ligandos WNT, possivelmente como uma alça autócrina: a ativação da β -catenina nos precursores iniciais favorece a sua proliferação ao passo que em fases posteriores a WNT3a inibe a osteoclastogénese (16).

Importa salientar a existência de dois fatores antagonistas desta via. O dickkopf-1 (DKK1) que se encontra nos osteoblastos e osteócitos maduros e demonstrou regular a diferenciação dos osteoblastos (16) e a esclerostina (SOST) que é expressa principalmente, mas não exclusivamente, por osteócitos maduros, que parecem regular a massa óssea em resposta a cargas mecânicas (17).

4. Métodos

Para a realização desta dissertação, foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed/MEDLINE e selecionados artigos entre 2013 e 2023, com base nos respectivos títulos e resumo. A equação de pesquisa introduzida na PubMed foi: (anorexia [Title/ Abstract]) AND (bone metabolismo [Title/Abstract]) que gerou 37 resultados. Por último, de forma a completar a informação encontrada, foi acrescentado à pesquisa o livro de psiquiatria, o DSM-V.

De entre os 37 resultados obtidos, que incluíam artigos de revisão sistemática, estudos controlados, estudos prospetivos e retrospectivos em língua inglesa, foi feita uma seleção que conta com 15 artigos originais em inglês que se encontram compilados na tabela 1.

Os critérios de inclusão para admissão neste estudo foram:

- Artigos em inglês;
- Artigos originais;
- Artigos publicados nos últimos 10 anos (entre 2013-2023);
- População do estudo contendo indivíduos do sexo feminino com AN, sem serem aplicadas restrições quanto à idade.

Os critérios de exclusão utilizados foram:

- Artigos que incidem maioritariamente sobre outras patologias que não a AN;
- Artigos que incidiam maioritariamente sobre o tratamento da AN;
- Artigos sem acesso;
- Artigos publicados fora do intervalo de pesquisa.

Para a elaboração do tópico 5.4. “Importantes adaptações hormonais na AN” foram também incluídos artigos de revisão, uma vez que, as informações referentes a algumas hormonas já haviam sido amplamente discutidas.

5. Efeitos da AN no metabolismo ósseo

Todos os artigos da tabela I foram unânimes ao afirmar que existe uma íntima relação entre a AN e o metabolismo ósseo. Considera-se que a AN provoca uma diminuição da DMO, compromete a qualidade óssea e aumenta o risco de fratura (18).

5.1. O papel das citocinas no metabolismo ósseo na AN

Com base na informação de que a osteoporose é uma complicação comum da AN, é sugerido que distúrbios na produção óssea libertam e estimulam a ação de certos agentes osteotrópicos incluindo citocinas pró-inflamatórias que contribuem para o decréscimo ou o aumento aquém do expectável da DMO nos pacientes com AN (19).

Citocinas como: a interleucina (IL)-1 β , IL-6, o fator de necrose tumoral (TNF)- α e o fator de crescimento transformador (TGF)- β 1, também podem estar envolvidas, dado que foi verificada correlação com os níveis de OPG, RANKL e a relação OPG/RANKL em raparigas com AN. No entanto, os resultados obtidos dos inúmeros estudos realizados nem sempre foram consistentes. Vários autores relataram níveis normais, diminuídos ou aumentados (19, 20) de IL-1 β ; normal (21) ou aumento (19) das concentrações de IL-6, bem como normal (21) ou aumento (19) dos níveis de TNF- α em comparação com os grupos controlo (peso saudável). Ao considerar a possível contribuição das citocinas pró-inflamatórias para a osteoporose em doentes com AN deve ter-se em conta que as alterações endócrinas observadas nestes indivíduos, incluindo a supressão das hormonas sexuais, bem como o aumento da secreção de cortisol, podem, por um lado, afetar a imunidade celular e, por outro lado, modificar a remodelação óssea através do sistema RANKL/RANK/OPG (19).

O papel do TGF- β 1 na regulação da formação óssea está bem estabelecido. Ocorre estimulação autócrina pelo TGF- β 1 que estimula a proliferação osteoblástica, bloqueia a apoptose osteoblástica e recruta precursores osteoblásticos ou osteoblastos produtores da matriz por atração quimiotática. Por outro lado, o TGF- β 1 inibe a fase tardia da mineralização e proliferação osteoblástica, sendo que esta etapa está regulada positivamente por outros fatores como as proteínas da matriz óssea (PMO). Assim, o TGF- β 1 pode atuar como um regulador importante da remodelação óssea, influenciando tanto a formação quanto a reabsorção óssea bem como a produção de certas citocinas pró-inflamatórias (8, 22, 23, 24).

Segundo o estudo de Ostrowska *et al*, as raparigas com AN têm os níveis séricos de TGF- β 1 significativamente baixos comparativamente às raparigas ditas saudáveis com peso corporal normal. O facto de terem menos TGF- β 1 correlaciona-se com a perda de peso e o menor índice de massa corporal (IMC). Para além da supressão das concentrações de osteocalcina (OC), telopéptido C-terminal do colagénio tipo I (CTx) e do rácio OPG/RANKL, foi também observado um aumento sérico de OPG e de RANKL. Estes achados sugerem que distúrbios nos níveis de TGF- β 1 e as múltiplas interações com os agentes osteotrópicos podem contribuir para complicações ósseas observadas nos pacientes com AN. Existem outros estudos feitos no passado, que revelaram resultados inconsistentes em relação à concentração sérica de TGF- β 1 em mulheres com AN, provavelmente por terem utilizado amostras mais pequenas ou por terem estimado a concentração sérica de TGF- β 1 através de métodos diferentes ou porque as mudanças na concentração deste fator resultam tanto do estado de subnutrição bem como da desregulação do balanço anti/pro-inflamatório (24).

Verifica-se ainda a existência de membros da superfamília TGF- β entre os quais, os fatores de diferenciação do crescimento 8 e 11 (GDF8/miostatina e GDF11) que desempenham um papel importante na regeneração de músculo e metabolismo ósseo. Ambos os fatores induzem a fosforilação do SMAD2/3 através do recetor ActRIIb (25), no entanto, GDF11 é um ativador mais potente do SMAD2/3 e sinaliza mais eficazmente do que o GDF8 (26). O GDF8 é maioritariamente expresso nas células musculares do esqueleto, regula negativamente a regeneração muscular como também regula indiretamente a formação/remodelação óssea por inibir o crescimento muscular, sendo que reprime a formação óssea e acelera a sua reabsorção (27, 28). Ao passo que o GDF11 ao estar aumentado nas raparigas com AN, funciona como um preditor independente negativo da DMO, pois pode inibir mais fortemente a formação óssea ao coibir a diferenciação dos osteoblastos e por estimular osteoclastogénese induzindo RANKL (29), acelerando também a perda óssea ao diminuir a massa muscular (28).

5.2. Marcadores ósseos e a via Wnt na AN

A AN leva tanto a menores níveis de formação óssea como também a menor expressão de alguns marcadores de reabsorção óssea, logo, diminui o “turnover” ósseo (18). Alguns marcadores de reabsorção ósseos, tais como: a OC e o CTx encontram-se diminuídos nas raparigas com AN, o que sugere diminuição geral da remodelação e acumulação óssea, assim como do rácio OPG/sRANKL (24), dado que, a supressão desses marcadores de reabsorção óssea observada nestes casos pode indicar um efeito inibitório nas concentrações de OPG na atividade osteoclástica (19).

Porém, pacientes com amenorreia e AN mostraram níveis de CTx aumentados assim como algumas diferenças do N-propéptido de colagénio tipo I (P1NP) conforme a faixa etária estudada. Adicionalmente, os níveis de P1NP em doentes jovens adultas (20-45 anos) com AN e amenorreia foi semelhante ao encontrado em mulheres jovens saudáveis com ciclos menstruais normais, mas inferior ao observado em mulheres na pós-menopausa. Por outro lado, nas adolescentes (13-19 anos) com AN e amenorreia, os níveis de P1NP foram inferiores aos das mulheres na pós-menopausa, mas também inferiores aos das adolescentes saudáveis, ainda que não significativos (17).

Espera-se que o P1NP em mulheres jovens saudáveis seja maior ou semelhante ao encontrado em mulheres na pós-menopausa (30, 31). Nas pacientes adultas com AN e amenorreia, o P1NP foi menor do que nas mulheres na pós-menopausa. Estes resultados demonstram que as mulheres com AN e amenorreia têm um aumento marcado de reabsorção óssea e uma supressão da formação óssea relativa com um potencial desacoplamento mais severo do que o que ocorre nas mulheres que estão no período pós-menopausa. Para além disso, quando compararam as adolescentes com AN e as jovens adultas com AN, encontraram níveis semelhantes de P1NP e níveis mais elevados de CTX nas adolescentes, sendo que esta diferença persistiu após o ajuste do IMC. Estes resultados estão em desacordo com uma série de outros estudos (32) que mostram um certo grau de variabilidade nos níveis de marcadores tanto de reabsorção como de formação. No entanto, em todos estes estudos anteriores, os grupos de controlo eram compostos por raparigas adolescentes saudáveis, nas quais se espera que a renovação óssea esteja aumentada (17).

O metabolismo ósseo é fortemente dependente da via de sinalização Wnt. Do mesmo modo que a ativação da via Wnt leva a uma elevada massa óssea, a inativação da mesma via leva à perda óssea. A via Wnt influencia a formação óssea através de efeitos no número de osteoblastos, maturação dos osteoclastos e diferenciação das células progenitoras, adicionalmente, essas ações são opostas por vários fatores secretados como SOST e DKK1 (17).

O DKK1 inibe a sinalização Wnt e a OPG ao mesmo tempo que estimula osteoclastogénese. Nas doentes adultas jovens com AN, este marcador revelou-se mais baixo do que nos indivíduos saudáveis da mesma idade, o que indica que este inibidor da Wnt não está envolvido na diminuição observada no P1NP, sendo o nível mais baixo obtido com grande probabilidade secundário à formação óssea deprimida. Esta diminuição do DKK1 nas doentes adultas jovens com AN não foi verificada nas

adolescentes com AN, provavelmente devido à maior duração da doença nas doentes mais velhas (17).

Os níveis de SOST nas mulheres com AN, segundo Idolazzi *et al*, não foram diferentes dos encontrados dos controlos. Estes resultados contrastam com a ideia geral de que a sobrecarga do esqueleto está associada a uma regulação negativa da SOST e ao consequente aumento da atividade osteoblástica, apesar de estudos realizados em indivíduos com peso corporal e IMC aumentados terem verificado que a SOST estava significativamente aumentada (17, 33).

5.3. A influência das principais adipocinas envolvidas na AN

Adipocinas como leptina, adiponectina, quemerina, vaspina e omentina-1 são componentes bioquímicos envolvidos na modulação da remodelação óssea, adipogénese medular e metabolismo energético (18, 34).

Demonstrou-se existir uma diminuição significativa das concentrações médias de leptina no soro das raparigas com AN, e um aumento significativo nas concentrações médias de adiponectina. Adicionalmente, a DMO revelou em várias regiões do esqueleto correlacionar-se negativamente com a adiponectina e positivamente com a leptina (11, 34).

A adiponectina aumenta os níveis de RANK e diminui o rácio OPG/RANKL, ao passo de que a leptina revelou correlacionar-se positivamente com o CTx, o rácio OPG/RANKL e o IMC (34).

A quemerina atua como mediador do balanço na remodelação óssea e do sistema OPG/RANKL. A produção desta adipocina ao encontrar-se diminuída nas mulheres com AN é altamente provável que proporcione distúrbios no metabolismo ósseo pelo efeito de inversão do rácio OPG/RANKL que provoca um excesso de RANKL (18). A DMO varia conforme a área esquelética examinada em adolescentes com AN. Portanto, o efeito da quemerina no estado esquelético depende, não apenas do grau de desnutrição e do défice de tecido adiposo (TA), mas também da sensibilidade da área examinada por densitometria a esta adipocina. Devem ainda ser consideradas outras formas de influência indireta da quemerina no metabolismo ósseo, como por exemplo, o efeito na secreção de vários fatores osteotrópicos, incluindo citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6, TNF- α , IL-11, IL-15 (19) ou adipocinas (35, 36, 18).

A Omentina-1 influencia negativamente a renovação óssea em mulheres com AN afetando tanto a formação como a reabsorção do tecido ósseo. Tendo, uma vez mais, por base o sistema OPG/sRANKL, que desempenha um papel importante neste último processo. As alterações séricas de omentina-1 revelaram-se associadas a uma considerável supressão dos níveis séricos médios de OC e CTx e elevação dos níveis médios de OPG e sRANKL em comparação com participantes saudáveis, enquanto as razões OC/CTx e OPG/sRANKL foram significativamente reduzidas. É de salientar que os níveis de omentina-1 diminuem em doentes obesos e aumentam após a perda de peso (37, 38, 39, 40), sendo que estas alterações se demonstraram positivamente correlacionadas com a adiponectina e negativamente correlacionadas com o IMC e a leptina (11).

A subnutrição e a perda extrema de peso na AN podem levar à produção anormal de vaspina. A elevação da vaspina em raparigas com AN foi associada à supressão significativa de OC e CTx, e a um aumento no OPG e sRANKL séricos, enquanto a razão OPG/sRANKL foi significativamente reduzida. Estas interações entre a vaspina, marcadores ósseos e citocinas do sistema RANKL/RANK/OPG na AN podem contribuir para o desenvolvimento de osteoporose nestes indivíduos. A vaspina pode ainda interagir com outras hormonas do TA e citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , IL-6 ou IL-1 (10, 41, 42, 43). As hormonas do crescimento e da tiróide também podem afetar a secreção de vaspina e atuar como reguladores do metabolismo ósseo. Portanto, não se pode descartar que a relação da vaspina possa envolver alguns agentes osteotrópicos, principalmente hormonas (adiponectina e leptina) e citocinas (cujas concentrações estão anormais na AN e que modulam ou são modulados pela vaspina) (10).

5.4. Importantes adaptações hormonais na AN

Como consequência da AN existem adaptações hormonais que potencialmente contribuem para a perda de massa óssea. Importa destacar o hipogonadismo hipogonadotrófico, o baixo nível de IGF-1 pela resistência da GH, a hipercotisolemia, baixo sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEA), baixa leptina, grelina elevada e péptido YY (PYY) elevado (1).

5.4.1. Amenorreia hipotalâmica (AH) funcional

A AH, um problema frequente nas mulheres com AN (4), resulta tanto na deficiência de estrogénio como na diminuição da secreção gonadal de testosterona que se traduz em efeitos nocivos no metabolismo ósseo. Mulheres com amenorreia têm a

reabsorção óssea aumentada, tal como as mulheres no período pós-menopausa, para além disso, têm também a formação óssea deprimida (17).

O efeito de supressão do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal preserva a energia num estado de semi-inanição, evitando que a energia seja desviada para a reprodução e manutenção de um feto em crescimento (44, 45).

A diminuição dos níveis de estrogénios resulta numa diminuição das defesas contra o stress oxidativo no osso, o que conduz a um aumento da reabsorção óssea e a uma diminuição da formação óssea (46). Foi comprovada uma correlação positiva entre os níveis de estrogénios e o conteúdo mineral ósseo e os marcadores de formação óssea (47). Sabe-se que o estrogénio estimula os osteoblastos a expressarem o gene OPG ao passo que a supressão do mesmo é causada pela $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, glucocorticoides e hormona da paratiroide (PTH) (19).

Por outro lado, o estrogénio inibe a reabsorção óssea osteoclástica, podendo também aumentar a formação óssea através da inibição da SOST e do fator-1 pré-adipócito (Pref-1), um regulador negativo da osteoblastogénese na medula. A deficiência do estrogénio está intimamente ligada à amenorreia na AN, embora a reabsorção óssea seja maior em mulheres adultas amenorreicas com AN do que em mulheres pós-menopáusicas, isto sugere que outros fatores também contribuem para o aumento da reabsorção óssea na AN (17, 45, 48, 49).

As mulheres com AN podem também ter níveis baixos de testosterona e DHEAS, que é produzido pelas glândulas suprarrenais e convertido em androgénios e estrogénios, enquanto as mulheres com peso normal e AH parecem manter níveis normais de androgénios (14).

A testosterona é uma hormona que se considera ter um efeito positivo no osso pela sua aromatização em estradiol (E2) e também pelos seus efeitos anabólicos diretos no osso. No entanto, os níveis de testosterona nas mulheres com AN estão mais baixos comparativamente aos controlos e estão associados a medidas inferiores da DMO (45).

5.4.2. Hormona do crescimento (GH), IGF-1 e FGF-21

Os doentes com AN apresentam concentrações elevadas de GH, tanto a nível basal como após estimulação com hormona libertadora da GH (GHRH). Estes valores justificam-se pelo facto do jejum persistente implicar distúrbios na secreção GHRH e da

GH, levando a que os níveis de somatostatina permaneçam baixos mesmo após estimulação com as hormonas já referidas (10).

Apesar dos níveis elevados de GH, o IGF-1 (hormona segregada pelo fígado em resposta à estimulação da GH) está reduzido, o que se traduz num estado adquirido de resistência à GH (10).

Níveis elevados de GH são críticos durante os períodos de fome, pois mantêm a euglicémia, em parte pela mobilização da gordura (50). Contudo, os efeitos promotores de crescimento da GH mediados predominantemente pelo IGF-1 seriam mal adaptativos durante o défice nutricional. Deste modo, a resistência à GH permite um desacoplamento do eixo GH-IGF durante a inanição. Estas adaptações diminuem o gasto energético em estados de subnutrição e contribuem para a perda de massa óssea na AN (1).

Adicionalmente, foi sugerido que a resistência à GH e as alterações no eixo hipotálamo-hipófise-tiróide podem desempenhar um papel na osteopenia e na diminuição do pico de massa óssea frequentemente associada à AN (10).

O FGF-21 (fator de crescimento de fibroblastos 21), uma hormona produzida no fígado em estados de inanição, pode também ser um mediador chave da resistência à GH. Os níveis de FGF-21 estão inversamente associados a estimativas de resistência do osso radial na AN (45, 51).

5.4.3. Hormonas do apetite (leptina, grelina, PYY)

As hormonas reguladoras do apetite, como a leptina (hormona anorexígena), a grelina (orexígena) e PYY (anorexígeno), encontram-se alteradas na AN (52).

A leptina e a grelina são anabolizantes ósseos, enquanto o PYY inibe a diferenciação dos osteoblastos. Em comparação com os controlos, os adultos e adolescentes com AN têm níveis mais baixos de leptina, uma potencial resistência à grelina, apresentando níveis mais elevados de grelina e um aumento de PYY (45).

Os níveis de grelina diminuem nos períodos de ingestão alimentar, logo as mulheres com AN têm níveis de grelina mais elevados em comparação com os controlos com peso normal (1).

Os efeitos mais característicos da grelina são: a sua capacidade para estimular a secreção tardia de GH, provavelmente relevante para a homeostase da glicose e equilíbrio energético; o seu papel como hormona orexigénica que atua em circuitos chave

hipotalâmicos e mesencefálicos envolvidos no controlo da alimentação; o seu envolvimento em várias outras funções fisiológicas, tal como, na fisiologia óssea (53).

Em adolescentes saudáveis, concentrações mais elevadas de grelina predizem maior DMO. No entanto, esta associação não é observada na AN, sugerindo resistência à grelina. Níveis mais baixos de leptina e mais altos de PYY estão associados a níveis mais baixos de marcadores de renovação óssea e menor DMO (45).

5.4.4. Cortisol

Adolescentes e mulheres jovens com AN têm níveis de cortisol mais elevados do que os controlos (45), o que também se verifica ser prejudicial, visto contribuir para uma menor massa óssea em pacientes com AN (54).

Os mecanismos pelos quais os níveis elevados de cortisol contribuem para a perda de massa óssea incluem uma diminuição da absorção de cálcio no intestino e provavelmente um aumento da excreção urinária de cálcio, proliferação de osteoblastos, bem como uma diminuição do IGF-1 (por diminuir a produção de GH) em células específicas do osso. Verifica-se também um aumento da reabsorção de gonadotropina induzida por GnRH e potencialmente através do aumento da expressão do recetor PTH nos osteoblastos (1).

5.4.5. O papel da serotonina e os efeitos do uso de inibidores de recaptção de serotonina (ISRS)

A serotonina é um neurotransmissor que se encontra principalmente, no trato gastrointestinal, no sistema nervoso central e nas plaquetas (55). Os recetores de serotonina (5-HT) encontram-se nos osteoblastos, osteoclastos e osteócitos (45). A síntese de serotonina sérica resulta da conversão de triptofano (TRP) catalisada pela triptofano hidroxilase, uma enzima codificada pelo gene *Tph1* expressa maioritariamente no intestino. A substancial redução na ingestão nutricional e, por conseguinte, na ingestão de TRP pode ter um papel relevante nos níveis séricos baixos de serotonina observados nos pacientes com AN, uma hipótese apoiada pela correlação positiva observada entre os níveis séricos de serotonina e marcadores nutricionais como o peso, IMC, leptina, IGF-1, WB-FT (whole body fat mass) quando os pacientes e os controlos foram agrupados (56).

É sabido que reduções dos níveis de leptina e da serotonina têm impactos opostos na ativação do SNS (sistema nervoso simpático). Se por um lado o défice de serotonina ativa o SNS, por outro lado o défice de leptina reduz a ativação do mesmo. Isto sugere que o défice de serotonina na AN pode culminar na modulação do SNS e um consequente

tónus simpático excessivo pode levar a efeitos prejudiciais na massa óssea, promovendo a reabsorção óssea e suprimindo a formação óssea. Todavia, uma avaliação mais detalhada acerca desta hipótese terá de ser efetuada de modo a comprovar a especulação de que a relação entre baixos níveis de serotonina e redução de massa óssea mediada pela ativação do SNS é plausível (56).

Note-se que os doentes com AN apresentam frequentemente sintomas depressivos associados e que os inibidores de recaptção de serotonina (ISRS) são normalmente utilizados para tratar esses sintomas. Coloca-se então a hipótese de que os ISRS tenham efeitos na perda de massa óssea, contudo são necessários mais estudos sobre o seu impacto nos níveis de serotonina e no metabolismo ósseo (56).

Foram estabelecidas associações, mas não foi provada a causalidade. Dada a prevalência de doenças psiquiátricas na idade jovem adulta e o aumento da prescrição de ISRS nesta faixa etária, sendo uma fase crítica para acumulação de massa óssea, torna-se premente investigar mais profundamente os efeitos na remodelação óssea (55).

5.5. O stress oxidativo na AN

As raparigas adolescentes com AN têm uma defesa antioxidante diminuída e um aumento dos danos oxidativos nas biomoléculas. A perturbação do estado oxidativo pode afetar a perda óssea e contribuir para a diminuição da DMO em adolescentes do sexo feminino com AN (47). Uma dieta inadequada pode contribuir para o aumento da produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), moléculas instáveis contendo oxigénio que são produzidas durante o metabolismo celular normal e desempenham um papel importante na homeostase celular (57). Vários estudos sugerem que as ROS podem reduzir ou até bloquear a atividade e diferenciação dos osteoblastos, além de induzir a apoptose dos osteoblastos e osteócitos, resultando no comprometimento da mineralização óssea e osteogénese (58). Indicadores de stress oxidativo, incluindo óxido nítrico e a apolipoproteína B, apresentam-se significativamente elevados, enquanto os marcadores antioxidantes, incluindo a glutathione, a cisteína e a superóxido dismutase, estão significativamente mais baixos nos doentes com AN (59). Os marcadores de stress carbonílico, como os produtos finais de glicação avançada (AGEs) e as frutossaminas mostram-se elevadas na AN e têm correlação negativa com a DMO e marcadores de renovação óssea (OC, P1NP) (47).

As concentrações séricas de certos elementos com papel antioxidante, tais como: capacidade total antioxidante, o poder antioxidante redutor férrico e o ácido úrico foram

significativamente mais baixas em pacientes com AN do que os controlos, além do mais foi demonstrada uma correlação positiva entre os níveis de antioxidantes e a DMO assim como com os marcadores de formação óssea (47).

A glutathiona (GSH) é um antioxidante endógeno que protege as células dos radicais livres. Foi sugerido que a GSH está envolvida na diferenciação de osteoblastos e osteoclastos, bem como na osteoporose e noutras doenças ósseas, tendo sido demonstrado que a diminuição dos níveis de GSH e do rácio GSH/GSSG estão associados a uma saúde óssea comprometida pelo menor poder defensor antioxidante (47).

No entanto, mais estudos longitudinais são necessários para que se possam estabelecer vínculos causais entre o desequilíbrio no estado oxidativo e carbonilo e as alterações esqueléticas em raparigas com AN (47).

5.6. O gasto de energia em repouso, vitamina D e PTH

O GER medido por calorimetria fornece uma reflexão precisa, não apenas da composição corporal alterada mas também das variações na remodelação óssea, na homeostase da glicose, nas hormonas derivadas do TA e na secreção de fatores de crescimento. Dados recentes demonstraram que o GER é mais baixo na AN crónica do que nos controlos, estando associado a uma taxa metabólica significativamente reduzida da massa isenta de gordura (60). É provável que a renovação e a massa óssea apresentem adaptações cinéticas específicas, e que a atividade das células ósseas, assim como o GER, seja rapidamente afetada pela grave desnutrição enquanto a perda óssea, por ser um processo mais lento, requer mais tempo para ser detetado por meio das mudanças na DMO. No contexto de desnutrição é de notar que o GER e a OC sugerem uma interação forte entre o esqueleto e os vários tecidos associados à homeostase energética e ao metabolismo da glicose (61). Associadamente, os baixos níveis de leptina presentes na AN estão positivamente correlacionados com fatores nutricionais e com a diminuição dos marcadores de formação óssea OC e P1NP e, negativamente correlacionados com CTx e sOB-R (recetores solúveis da leptina) (6), indicando que o GER é um marcador útil na avaliação das alterações hormonais relacionadas com a grave desnutrição (61).

Além disso, os parâmetros da homeostase da glicose mostram-se fortemente e positivamente correlacionados com a leptina e o FLI (Free Leptin Index). No entanto, como a leptina, a OC e a resistência à insulina têm relação positiva com GER é mais provável que a desnutrição seja responsável pela diminuição concomitante dos mesmos e essa adaptação possa contribuir para prevenir uma hipoglicemia exacerbada (61).

Na AN os valores de GER indicam hipometabolismo, sendo que o efeito prejudicial da AN inicia-se precocemente e é severo. Confirmou-se uma relação direta e específica entre GER e os marcadores de renovação óssea, provada pela existência de uma correlação negativa entre GRE e CTx (marcador que reflete reabsorção óssea), e ainda, uma correlação positiva entre GER e OC ou P1NP, marcadores que refletem a formação óssea (61).

Mais de um terço dos pacientes com AN não tratada apresenta deficiência de vitamina D e dada a forte relação observada entre os níveis de vitamina D e a DMO da anca, sugere-se a importância de uma reposição adequada da vitamina D para uma adequada saúde óssea, apesar do nível alvo ideal de 25-hidroxivitamina D (25OHD) para estes doentes continuar a ser um tópico de discussão e de necessidade de investigação adicional. Demonstrou-se que indivíduos com níveis de vitamina D insuficientes ($<$ ou $=$ 20 ng/ml) têm uma correlação negativa com o peso corporal/IMC e uma correlação positiva com o DKK1, sendo estes fatores envolvidos na inibição da via Wnt. Tudo leva a querer que a deficiência de vitamina D pode causar uma alteração no sistema de controlo normal da via Wnt (62).

Salienta-se ainda a influência da PTH, que representa um papel essencial na saúde óssea e que ao se encontrar reduzida nos doentes com AN contribui para a redução da formação óssea e para os distúrbios da mineralização. Sabe-se que os níveis desta hormona são afetados por diversas variáveis, incluindo a 25OHD, ingestão de cálcio, o IMC e a idade. Os níveis de PTH são mais elevados nas crianças em fase pubertária do que aquelas que estão na fase pré-púbere, pelo que, quando se examina adolescentes é necessário ter em atenção que o limite inferior é mais elevado em comparação com adultos e crianças mais jovens (54, 63).

O intervalo de referência ideal para a PTH é aquele que mantém a homeostase normal do cálcio e a renovação óssea. Vários fatores foram considerados como possíveis causas para os níveis reduzidos de PTH observados nos doentes com AN, incluindo: elevada ingestão de cálcio, níveis mais elevados de vitamina D, perda líquida de cálcio do osso e a deficiência de magnésio. No entanto, o estudo realizado por Lenherr-Taube *et al*, não demonstrou resultados que apoiassem tanto a ingestão elevada de cálcio como a deficiência de magnésio como principais causas possíveis. No entanto, não negam a influência da perda do cálcio líquido ósseo e comprovam que a deficiência de vitamina D contribui para a supressão da PTH, via mudanças subtis na ionização do cálcio ou por alterações no metabolismo da própria vitamina D, que, contudo, ainda precisam de mais estudos (54).

Tabela 1. - Artigos originais incluídos.

Ano	Tipo de Estudo	Objetivos	Populações/Parâmetros	Conclusões	País	Referência
2021	Cross-sectional study	Avaliar o estado oxidativo em raparigas adolescentes com AN e a sua potencial relação com a DMO.	O estudo transversal incluiu 43 pacientes do sexo feminino com AN com idade média de $15,3 \pm 1,4$ anos (intervalo de $13,0-18,7$).	O desequilíbrio oxidativo está relacionado com a redução da DMO em raparigas jovens com AN, sugerindo uma possível causa.	Eslováquia	47
2016	Cross-sectional study	Caraterizar o metabolismo ósseo em doentes com AN com amenorreia e deficiência de estrogénio associada.	Incluiu 81 mulheres com AN. Exames laboratoriais (vitamina D 25-OH, marcadores de remodelação óssea, hormona da paratiróide inalterada, SOST e DKK1) e DXA foram tidos em consideração.	Mulheres com AN e amenorreia manifestam um desequilíbrio na remodelação óssea mais grave do que mulheres pós-menopáusicas.	Itália	17
2022	Case-control study	Análise comparativa entre o metabolismo ósseo, a quemerina, o sistema RANKL/RANK/OPG, e a DMO em raparigas com AN.	A quemerina plasmática, OC, CTx, OPG e sRANKL foram determinadas por ELISA em 75 raparigas com AN com idades compreendidas entre os 12,6 e os 17,8 anos.	A desnutrição e o défice associado de TA podem resultar numa produção inadequada de quemerina e distúrbios esqueléticos em raparigas com AN.	Polónia	18
2016	Case-control study	Avaliar a relação entre vaspina e metabolismo ósseo em mulheres com AN e o potencial envolvimento de OPG e RANKL nessa relação.	Vaspina sérica, OC, CTx, OPG e sRANKL foram determinados por ELISA em 50 raparigas com AN e em 30 controlos saudáveis com idade entre 13 e 17 anos.	A desnutrição e o défice associado de TA podem resultar na produção inadequada de vaspina e distúrbios do metabolismo ósseo em mulheres com AN. Alterações nas relações entre estes podem contribuir para o desenvolvimento de osteoporose em mulheres com AN.	Polónia	10
2016	Case-control study	Determinar se: mulheres com AN exibiram uma relação entre TGF- β 1 e metabolismo ósseo; OPG e sRANKL podem modificar a possível relação entre TGF- β 1 e metabolismo ósseo.	As concentrações séricas de TGF- β , OC, CTx, OPG e o seu ligando solúvel sRANKL foram determinadas por ELISA em 60 raparigas com AN e em 20 controlos saudáveis. Todas com idades entre os 13 e os 17 anos.	Alterações nos marcadores ósseos, OPG e/ou relação OPG/sRANKL observadas em raparigas com AN associam-se a alterações nas concentrações séricas de TGF- β 1 que pode levar a distúrbios na relação entre o metabolismo ósseo e o sistema OPG/sRANKL e comprometer o mecanismo de compensação da remodelação óssea.	Polónia	24
2018	Case-control study	Comparar os perfis dos dois tipos de AN (AN-R e AN-BP) em termos de composição corporal, estado ginecológico, história da doença e os efeitos potenciais no metabolismo ósseo.	Incluiu 286 mulheres com AN ($21,8 \pm 6,5$ anos; 204 AN-R e 82 AN-BP) e 130 controlos pareados por idade (CON; $22,6 \pm 6,8$ anos) foram incluídos.	O impacto das características do perfil no estado ósseo, embora significativo, foi menor e desapareceu após múltiplos ajustes. A correlação positiva entre GER e a DMO reforça o conceito de que a disposição de energia e o metabolismo ósseo são interdependentes.	França	6

Anorexia Nervosa: O impacto no metabolismo ósseo nas mulheres

2015	Cohort study	Avaliar a prevalência da deficiência de vitamina D em pacientes com AN e se isso afetava o metabolismo/densidade óssea em comparação com aqueles com níveis adequados de vitamina D.	Analisaram o status da vitamina D e o metabolismo ósseo numa coorte (n = 89) de pacientes não tratados afetados por AN, com amenorreia.	Foi encontrada uma forte relação entre o status de vitamina D e os valores de DMO do quadril com benefícios adicionais para aqueles com níveis de 25OHD acima de 20 ng/ml. O segundo ponto, se 25OHD deve estar acima de 20 ou 30 ng/ml, permanece um ponto de discussão.	Itália	62
2015	Case-control study	Avaliar a relação entre a omentina-1 e o metabolismo ósseo em raparigas com AN, bem como o possível envolvimento de OPG e RANKL nessa relação.	Omentina-1 sérica, OC, CTx, OPG e sRANKL foram determinados por ELISA em 49 raparigas com AN e em 30 controlos saudáveis, com idades entre 13 e 17 anos.	A relação entre omentina-1, marcadores ósseos e as razões OC/CTx e OPG/sRANKL observada em mulheres com AN indica o envolvimento dessa adipocina na regulação do equilíbrio dinâmico entre os processos de formação e reabsorção óssea. A omentina-1 pode exercer um efeito negativo na remodelação óssea em mulheres com AN.	Polónia	11
2015	Case-control study	Determinar se as jovens com AN apresentam alguma relação entre IL-1 β , IL-6, TNF- α , marcadores de remodelação óssea (OC e CTx), OPG, sRANKL e a razão OPG/sRANKL.	Soro IL-1 β , IL-6, TNF- α , OC, CTx, OPG e sRANKL foram determinados por ELISA em 59 raparigas com AN e em 17 contrapartes saudáveis, com idades entre 13 e 17 anos.	Conforme indicado pela relação entre o estado nutricional e as concentrações de IL-1 β , IL-6 e TNF- α , juntamente com marcadores ósseos, OPG e sRANKL, sugerindo um possível papel dessas citocinas na falta do aumento esperado da DMO em adolescentes com AN.	Polónia	19
2018	Case-control study	Investigar a relação entre GDF8, GDF11 e DMO em adolescentes do sexo feminino com AN.	Soro GDF8, GDF11 e DMO foram determinados em 25 raparigas (12-16 anos) com AN e 31 raparigas saudáveis (12-16 anos).	O fator de diferenciação de crescimento 11 foi preditor independente de DMO em meninas com AN. Sugeriu que o GDF11 exerce um efeito negativo na massa óssea.	China	28
2015	Case-control study	Avaliar os efeitos do défice energético na remodelação óssea e suas potenciais interações com a homeostase da glicose e das hormonas derivadas do TA na AN.	50 mulheres com AN e 50 controlos da mesma idade (idade média de 18,1 \pm 2,7 e 18,0 \pm 2,1 anos, respetivamente) foram incluídos. aBMD foi determinado com DXA.	As fortes inter-relações entre GER e remodelação óssea, homeostase da glicose e adipocinas ressaltam a importância da prevenção da deficiência de energia para limitar a desmineralização óssea de curto e longo prazo e alterações hormonais em pacientes com AN.	França	61

Anorexia Nervosa: O impacto no metabolismo ósseo nas mulheres

2020	Cross-sectional study	Investigar as medidas centrais do metabolismo do cálcio e da vitamina D em jovens com AN e determinar se alguma anormalidade significativa requer estudos adicionais.	Estudo transversal de 61 adolescentes (54 raparigas, 7 rapazes) (idade média = $15,2 \pm 1,56$ anos) com diagnóstico recente de AN.	Os níveis de PTH estavam reduzidos em $\approx 1/3$ dos adolescentes com AN. Este achado pode desmascarar um potencial papel dos níveis reduzidos de PTH na patogénese dos cálculos renais e do fenótipo ósseo em doentes com AN.	Canadá	54
2016	Case-control study	Investigar o potencial envolvimento da serotonina sérica na perda óssea precoce e grave de mulheres jovens com AN.	40 mulheres jovens foram incluídas neste estudo. Destas, 21 tinham sido diagnosticadas com AN. Apenas pacientes com AN restritiva foram incluídos. O controlo foi composto por 19 mulheres saudáveis com peso normal e IMC < 18–25 kg/m ² .	Pacientes com AN apresentam baixos níveis de serotonina séricos, e embora a ligação direta com a massa óssea não tenha sido estabelecida, a correlação negativa com marcadores de reabsorção óssea sugere o papel da serotonina no metabolismo ósseo, destaca-se a necessidade de mais estudos.	França	56
2015	Cross-sectional study	Investigar associações entre o uso de ISRSs e a massa óssea em adolescentes.	Análise transversal de dados da edição de 2005-2010. 4303 participantes do NHANES com idades entre 12 e 20 anos. A idade média foi de $15,65 \pm 2,42$ anos.	Neste estudo NHANES, os adolescentes tratados com ISRSs tiveram medições DXA mais baixas do fémur total e da coluna lombar em comparação com os não usuários de SSRIs. Esses achados reforçam a necessidade de futuros estudos prospetivos.	Estados Unidos	55
2014	Case-control study	Determinar se as raparigas com AN apresentavam relação entre os níveis séricos de LP, ADIPO, RES, VISF, APE-36, APE-12, e os marcadores ósseos, OPG e sRANKL.	Os níveis séricos de hormonas seleccionadas do TA, OC, CTx, OPG e sRANKL foram avaliados por ELISA em 86 participantes do estudo que sofriam de AN e 21 controlos saudáveis, todos com idades entre os 13 e os 18 anos.	As relações anormais entre o metabolismo ósseo e a LP, ADIPO, RES, VISF e APE podem afetar negativamente o equilíbrio do sistema OPG/sRANKL o que potencialmente compromete o mecanismo que compensa as perturbações da remodelação óssea.	Polónia	34

6. Tratamento e Prevenção

Várias técnicas terapêuticas têm sido investigadas para o tratamento da doença óssea na AN com resultados variáveis (52).

Embora tenham sido feitos avanços na compreensão das alterações hormonais nos indivíduos com baixo peso, as opções de tratamento hormonal permanecem limitadas, especialmente em termos de hormonas hipofisárias. Efetivamente, estudos com amostras mais pequenas indicaram que a metreleptina pode ter um papel promissor na melhoria dos resultados nos indivíduos com AN. É imperativo distinguir entre magreza constitucional e AN com base nos perfis hormonais, particularmente com a evolução dos critérios de diagnóstico. Para evitar uma maior perda óssea, os estudos analisados recomendam a suplementação de estrogénio transcutâneo e progestagénio oral, juntamente com vitamina D e cálcio (64).

Os défices esqueléticos persistem frequentemente mesmo após a recuperação da doença, com sérias implicações para a saúde esquelética futura (65).

Demonstrou-se que são as variações de peso que ocorrem num período inferior a 6 meses que modelam fortemente os fatores biológicos. Essa descoberta sugere que o ganho de peso, mesmo que pequeno, envia um sinal positivo ao organismo que provavelmente reduz as medidas de energia de reserva implementadas pela fome crónica e tende a normalizar vários parâmetros. Estes resultados sugerem ainda que recuperar uma média de apenas 3,7 kg, o que corresponde a menos de 10% do peso corporal, é suficiente para colocar o paciente num ambiente favorável e provavelmente reduzir a parte de energia de reserva mobilizada pelo corpo durante a fome crónica (60, 61).

Alguns indivíduos com AN recuperam totalmente depois de um único episódio, outros exibem um padrão flutuante de ganho de peso seguido por recaída, e outros ainda experienciam um curso crónico ao longo de muitos anos. A hospitalização pode ser necessária para recuperar o peso e tratar complicações clínicas. A maioria dos indivíduos com AN sofre remissão dentro de 5 anos depois da manifestação inicial do transtorno. Entre os admitidos ao hospital, as taxas de remissão podem ser menores. A taxa bruta de mortalidade para AN é de cerca de 5% por década. A morte resulta mais comumente de complicações clínicas associadas ao próprio transtorno ou de suicídio (2).

7. Conclusão

Em suma, existe uma forte correlação entre a AN e o metabolismo ósseo. Importa, portanto, aprofundar os conhecimentos adquiridos até à data relativamente a esta temática na tentativa de prevenir o impacto da AN no osso. Note-se que os efeitos na DMO é uma das consequências não reversíveis da AN, sendo das mais impactantes por ocorrer logo na fase precoce da doença.

Torna-se então fundamental na prática clínica considerar esta relação para a predição do risco osteoporótico e de fratura óssea futura. É necessário aprofundar os estudos de forma a que, eventualmente, se possa encontrar um fator que tenha um maior peso no metabolismo ósseo e que simultaneamente contribua decisivamente para superar de forma efetiva a indiscutível relação da AN com a perda de massa óssea. Complementarmente, sublinho a relevância para a inclusão de homens em estudos futuros dado que apesar de ser uma população afetada em menor proporção não deve ser negligenciada.

Adicionalmente, poderá ser fundamental estudar a importância da depressão, que acompanha inúmeros casos de AN, de modo a aferir o impacto do seu tratamento com recurso a ISRS para que seja possível eliminar precocemente um possível fator influenciador negativo da promoção da saúde óssea.

Por outro lado, é também essencial implementar medidas de prevenção, não só em jovens com risco de desenvolver AN, mas também em contexto comunitário global. Entre estas, podemos considerar medidas de prevenção primordial ou primária, como intervenções em escolas de ensino básico, secundário ou superior, ou também por ações de consciencialização comunitárias através de campanhas publicitárias, redes sociais entre outras.

Por fim, ainda que até hoje o melhor tratamento e prevenção dos efeitos da AN no metabolismo ósseo seja a recuperação da adoção de uma dieta equilibrada e estilo de vida saudável, ao percebermos melhor o mecanismo envolvido nesta problemática através de mais estudos poderá ser comprovada uma maior evidência científica na recomendação da introdução de suplementos/fármacos que impeçam o comprometimento da integridade óssea.

Referências Bibliográficas

1. Fazeli PK, Klibanski A. Effects of Anorexia Nervosa on Bone Metabolism. *Endocr Rev.* 2018 Dec 1;39(6):895–910.
2. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 5th ed. United States of America: American Psychiatric Publishing; 2013. xiii–947.
3. Misra M, Klibanski A. Anorexia nervosa and bone. *Journal of Endocrinology.* 2014;221(3):R163–76.
4. Fazeli PK, Klibanski A. Anorexia nervosa and bone metabolism. *Bone.* 2014;66:39–45.
5. Stagi S, Cavalli L, Iurato C, Seminara S, Brandi ML, De Martino M. Bone metabolism in children and adolescents: main characteristics of the determinants of peak bone mass. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism.* 2013;10(3):172–9.
6. Maïmoun L, Guillaume S, Lefebvre P, Bertet H, Seneque M, Philibert P, et al. Effects of the two types of anorexia nervosa (binge eating/purging and restrictive) on bone metabolism in female patients. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2018 Jun 1;88(6):863–72.
7. Zipfel S, Giel KE, Bulik CM, Hay P, Schmidt U. Anorexia nervosa: Aetiology, assessment, and treatment. *Lancet Psychiatry.* 2015;2(12):1099–111.
8. Kasagi S, Chen W. TGF-beta1 on osteoimmunology and the bone component cells. *Cell Biosci.* 2013 Jan 15;3(1):3–4.
9. Ferron M, Lacombe J. Regulation of energy metabolism by the skeleton: Osteocalcin and beyond. *Arch Biochem Biophys.* 2014 Nov 1;561:137–46.
10. Ostrowska Z, Ziora K, Oświęcimska J, Świętochowska E, Marek B, Kajdaniuk D, et al. Vaspin and selected indices of bone status in girls with anorexia nervosa. *Endokrynol Pol.* 2016;67(6):599–606.
11. Gołąbek K, Ostrowska zofia, Ziora K, Oświęcimska J, Świętochowska E, Marek B, et al. Association between omentin-1, bone metabolism markers, and cytokines of the RANKL/RANK/OPG system in girls with anorexia nervosa. *Endokrynol Pol.* 2015;66(6/2015):514–20.
12. Muruganandan S, Sinal CJ. Critical Review The Impact of Bone Marrow Adipocytes on Osteoblast and Osteoclast Differentiation. *IUBMB Life.* 2014;66(3):147-55.
13. Bonjour JP, Kohrt W, Lévassieur R, Warren M, Whiting S, Kraenzlin M. Biochemical markers for assessment of calcium economy and bone metabolism: Application in clinical trials from pharmaceutical agents to nutritional products. *Nutr Res Rev.* 2014;27(2):252-67.

14. Chou SH, Mantzoros C. Bone metabolism in anorexia nervosa and hypothalamic amenorrhea. *Metabolism*. 2018 Mar 1;80:91–104.
15. Martin TJ, Sims NA. RANKL/OPG; Critical role in bone physiology. *Rev Endocr Metab Disord*. 2015 Jul 1;16(2):131–9.
16. Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nat Med*. 2013 Feb;19(2):179–92.
17. Idolazzi L, El Ghoch M, Dalle Grave R, Bazzani P V., Calugi S, Fassio S, et al. Bone metabolism in patients with anorexia nervosa and amenorrhoea. *Eating and Weight Disorders*. 2018 Apr 1;23(2):255–61.
18. Ostrowska Z, Morawiecka-Pietrzak M, Pluskiewicz W, Świętochowska E, Strzelczyk J, Gołabek K, et al. The relationship between chemerin, bone metabolism, the RANKL/RANK/OPG system, and bone mineral density in girls with anorexia nervosa. *Endokrynol Pol*. 2022 Feb 16;73(1):26–34.
19. Ostrowska Z, Ziora K, Os"wiecimska J, Marek B, Świętochowska E, Kajdaniuk D, et al. Selected pro-inflammatory cytokines, bone metabolism, osteoprotegerin, and receptor activator of nuclear factor-kB ligand in girls with anorexia nervosa. *Endokrynol Pol*. 2015;66(4):313–21.
20. Ziora K, Świder M, Mazur B, Os"wiecimska J, Jachimowicz M, Matusik P, et al. Assessment of some serum circulating cytokines concentrations (IL-1 α , IL-1 β , IL-2) in girls with anorexia nervosa and simple obesity. *Endokrynologia Pediatria*. 2013;12:17–30.
21. Ziora K, Świder M, Mazur B, Os"wiecimska J, Jachimowicz M, Matusik P, et al. Serum IL-6, TNF- α i INF- γ in girls with eating disorders (anorexia nervosa vs. obesity). *Nr*. 2013;12(44):31–46.
22. Solmi M, Veronese N, Favaro A, Santonastaso P, Manzato E, Sergi G, et al. Inflammatory cytokines and anorexia nervosa: A meta-analysis of cross-sectional and longitudinal studies. *Psychoneuroendocrinology*. 2015 Jan 1;51:237–52.
23. Zupan J, Jeras M, Marc J. Osteoimmunology and the influence of pro-inflammatory cytokines on osteoclasts. *Biochem Med (Zagreb)*. 2013;23(1):43–63.
24. Ostrowska Z, Ziora K, Os"wiecimska J, Świętochowska E, Marek B, Kajdaniuk D, et al. TGF- β 1, bone metabolism, osteoprotegerin, and soluble receptor activator of nuclear factor-kB ligand in girls with anorexia nervosa. *Endokrynol Pol*. 2016;67(5/2016):493–500.
25. Sartori R, Sandri M. BMPs and the muscle-bone connection. *Bone*. 2015 Nov 1;80:37–42.
26. Walker RG, Czepnik M, Goebel EJ, McCoy JC, Vujic A, Cho M, et al. Structural basis for potency differences between GDF8 and GDF11. *BMC Biol*. 2017 Mar 3; 15(1):19.

27. Chen YS, Guo Q, Guo LJ, Liu T, Wu XP, Lin ZY, et al. GDF8 inhibits bone formation and promotes bone resorption in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2017 Apr 1;44(4):500–8.
28. Wu Y, Qu J, Li H, Yuan H, Guo Q, Ouyang Z, et al. Relationship between serum level of growth differentiation factors 8, 11 and bone mineral density in girls with anorexia nervosa. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2019 Jan 1;90(1):88–93.
29. Liu W, Zhou L, Zhou C, Zhang S, Jing J, Xie L, et al. GDF11 decreases bone mass by stimulating osteoclastogenesis and inhibiting osteoblast differentiation. *Nat Commun*. 2016 Sep 22;7:7–12794.
30. Nomura Y, Yoshizaki A, Yoshikata H, Kikuchi R, Sakakibara H, Chaki O, et al. Study of the distribution by age group of serum cross-linked C-terminal telopeptide of type i collagen and procollagen type i N-propeptide in healthy Japanese women to establish reference values. *J Bone Miner Metab*. 2013 Nov 1;31(6):644–51.
31. Jenkins N, Black M, Paul E, Pasco JA, Kotowicz MA, Schneider HG. Age-related reference intervals for bone turnover markers from an Australian reference population. *Bone*. 2013 Aug;55(2):271–6.
32. Tubić B, Pettersson C, Svedlund A, Forslund HB, Magnusson P, Swolin-Eide D. Increased Bone Mineral Content During Rapid Weight Gain Therapy in Anorexia Nervosa. *Hormone and Metabolic Research*. 2016 Sep 1;48(10):664–72.
33. Kuipers AL, Zhang Y, Yu S, Kammerer CM, Nestlerode CS, Chu Y, et al. Relative influence of heritability, environment and genetics on serum sclerostin. *Osteoporosis International*. 2014 Mar;25(3):905–12.
34. Ostrowska Z, Ziora K, Oświęcimska J, Świętochowska E, Marek B, Kajdaniuk D, et al. Bone metabolism, osteoprotegerin, receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and selected adipose tissue hormones in girls with anorexia nervosa. *Endokrynol Pol*. 2014;65(1):33–9.
35. Liu Y, Song CY, Wu SS, Liang QH, Yuan LQ, Liao EY. Novel adipokines and bone metabolism. *Int J Endocrinol*. 2013;2013: 895045.
36. Blüher M, Mantzoros CS. From leptin to other adipokines in health and disease: Facts and expectations at the beginning of the 21st century. *Metabolism*. 2015 Jan 1;64(1):131–45.
37. Catli G, Anik A, Abaci A, Kume T, Bober E. Low omentin-1 levels are related with clinical and metabolic parameters in obese children. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 2013 Oct 1;121(10):595–600.
38. Jaikanth C, Gurumurthy P, Cherian KM, Indhumathi T. Emergence of omentin as a pleiotropic adipocytokine. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 2013;121(7):377–83.

39. Zhang Q, Zhu L, Zheng M, Fan C, Li Y, Zhang D, et al. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects, type 2 diabetes and type 2 diabetes with overweight and obesity in Chinese adults. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2014;75(3):171–5.
40. Oświecimska J, Suwała A, Świetochowska E, Ostrowska Z, Gorczyca P, Ziора-Jakutowicz K, et al. Serum omentin levels in adolescent girls with anorexia nervosa and obesity. *Physiol Res*. 2015;64(5):701–9.
41. Hong HR, Ha CD, Jin YY, Kang HS. The effect of physical activity on serum IL-6 and vaspin levels in late elementary school children. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2015 Jun;19(2):99–106.
42. Jung CH, Lee MJ, Kang YM, Lee YL, Yoon HK, Kang SW, et al. Vaspin inhibits cytokine-induced nuclear factor-kappa B activation and adhesion molecule expression via AMP-activated protein kinase activation in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13:41.
43. Liu S, Dong Y, Wang T, Zhao S, Yang K, Chen X, et al. Vaspin inhibited proinflammatory cytokine induced activation of nuclear factor-kappa B and its downstream molecules in human endothelial EA.hy926 cells. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014;103(3):482–8.
44. Misra M, Klibanski A. Endocrine consequences of anorexia nervosa. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014;2(7):581–92.
45. Robinson L, Micali N, Misra M. Eating disorders and bone metabolism in women. *Curr Opin Pediatr*. 2017 Aug 1;29(4):488–96.
46. Cervellati C, Bonaccorsi G, Cremonini E, Bergamini CM, Patella A, Castaldini C, et al. Bone mass density selectively correlates with serum markers of oxidative damage in post-menopausal women. *Clin Chem Lab Med*. 2013 Feb 1;51(2):333–8.
47. Čagalová A, Tichá L, Gaál Kovalčíková A, Šebeková K, Podracká L. Bone mineral density and oxidative stress in adolescent girls with anorexia nervosa. *Eur J Pediatr*. 2022 Jan 1;181(1):311–21.
48. Divasta AD, Feldman HA, Beck TJ, Leboff MS, Gordon CM. Does hormone replacement normalize bone geometry in adolescents with anorexia nervosa? *Journal of Bone and Mineral Research*. 2014 Jan;29(1):151–7.
49. Faje AT, Fazeli PK, Katzman D, Miller KK, Breggia A, Rosen CJ, et al. Inhibition of Pref-1 (preadipocyte factor 1) by oestradiol in adolescent girls with anorexia nervosa is associated with improvement in lumbar bone mineral density. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013 Sep;79(3):326–32.
50. Gahete MD, Córdoba-Chacón J, Luque RM, Kineman RD. The rise in growth hormone during starvation does not serve to maintain glucose levels or lean mass

- but is required for appropriate adipose tissue response in female mice. *Endocrinology*. 2013 Jan 1;154(1):263–9.
51. Fazeli PK, Faje AT, Cross EJ, Lee H, Rosen CJ, Buxsein ML, et al. Serum FGF-21 levels are associated with worsened radial trabecular bone microarchitecture and decreased radial bone strength in women with anorexia nervosa. *Bone*. 2015 Aug 1;77:6–11.
 52. Jada K, Djossi SK, Khedr A, Neupane B, Proskuriakova E, Mostafa JA. The Pathophysiology of Anorexia Nervosa in Hypothalamic Endocrine Function and Bone Metabolism. *Cureus*. 2021;13(12):e20548.
 53. Méquinion M, Langlet F, Zgheib S, Dickson S, Dehouck B, Chauveau C, et al. Ghrelin: Central and peripheral implications in anorexia nervosa. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;4:15.
 54. Lenherr-Taube N, Trajcevski K, Sochett E, Katzman DK. Low PTH Levels in Adolescents With Anorexia Nervosa. *Front Pediatr*. 2020 Mar 11;8.
 55. Feuer AJ, Demmer RT, Thai A, Vogiatzi MG. Use of selective serotonin reuptake inhibitors and bone mass in adolescents: An NHANES study. *Bone*. 2015 Sep 1;78:28–33.
 56. Maïmoun L, Guillaume S, Lefebvre P, Philibert P, Bertet H, Picot MC, et al. Is Serum Serotonin Involved in the Bone Loss of Young Females with Anorexia Nervosa? *Hormone and Metabolic Research*. 2016 Mar 1;48(3):174–7.
 57. Achamrah N, Coëffier M, Rimbart A, Charles J, Folope V, Petit A, et al. Micronutrient Status in 153 Patients with Anorexia Nervosa. *Nutrients*. 2017 Mar 2;9(3): 225.
 58. Romagnoli C, Marcucci G, Favilli F, Zonefrati R, Mavilia C, Galli G, et al. Role of GSH/GSSG redox couple in osteogenic activity and osteoclastogenic markers of human osteoblast-like SaOS-2 cells. *FEBS Journal*. 2013 Feb;280(3):867–79.
 59. Solmi M, Veronese N, Manzato E, Sergi G, Favaro A, Santonastaso P, et al. Oxidative stress and antioxidant levels in patients with anorexia nervosa: A systematic review and exploratory meta-analysis. *International Journal of Eating Disorders*. 2015 Nov 1;48(7):826–41.
 60. Kosmiski L, Schmiege SJ, Mascolo M, Gaudiani J, Mehler PS. Chronic starvation secondary to anorexia nervosa is associated with an adaptive suppression of resting energy expenditure. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2014;99(3):908–14.
 61. Maïmoun L, Guillaume S, Lefebvre P, Philibert P, Bertet H, Picot MC, et al. Evidence of a link between resting energy expenditure and bone remodelling,

- glucose homeostasis and adipokine variations in adolescent girls with anorexia nervosa. *Osteoporosis International*. 2016 Jan 1;27(1):135–46.
62. Gatti D, El Ghoch M, Viapiana O, Ruocco A, Chignola E, Rossini M, et al. Strong relationship between vitamin D status and bone mineral density in anorexia nervosa. *Bone*. 2015 Sep 1;78:212–5.
63. Stagi S, Cavalli L, Ricci S, Mola M, Marchi C, Seminara S, et al. Parathyroid hormone levels in healthy children and adolescents. *Horm Res Paediatr*. 2015 Aug 27;84(2):124–9.
64. Fricke C, Voderholzer U. *Endocrinology of Underweight and Anorexia Nervosa*. Vol. 15, *Nutrients*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023;15(16).
65. Dede AD, Lyritis GP, Tournis S, Katraki Str M. Bone disease in anorexia nervosa. *Hormones*. 2014;13(1):38–56.