



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**Anapaula da Conceição Bisi Rizzo**

**COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA E  
MARCADORES ÓSSEOS DE FORMAÇÃO DE ADOLESCENTES  
USUÁRIAS DE DUAS FORMULAÇÕES DE ANTICONCEPCIONAIS  
HORMONAIIS ORAIS DE BAIXA DOSAGEM**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor(a), junto ao Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Adj. Tamara Beres Lederer Goldberg

Botucatu  
2017

**Anapaula da Conceição Bisi Rizzo**

**COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA E  
MARCADORES ÓSSEOS DE FORMAÇÃO DE ADOLESCENTES  
USUÁRIAS DE DUAS FORMULAÇÕES DE ANTICONCEPCIONAIS  
HORMONAIS ORAIS DE BAIXA DOSAGEM**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor(a), junto ao Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Adj. Tamara Beres Lederer Goldberg

Botucatu  
2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Rizzo, Anapaula da Conceição Bisi.

Comparação entre a densidade mineral óssea e marcadores ósseos de formação de adolescentes usuárias duas formulações de anticoncepcionais hormonais orais de baixa dosagem / Anapaula da Conceição Bisi Rizzo. - Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu  
Orientador: Tamara Beres Lederer Goldberg  
Capes: 40101088

1. Adolescentes (Meninas). 2. Anticoncepcionais orais. 3. Densidade óssea. 4. Osteocalcina. 5. Fosfatase Alcalina. 6. Remodelação óssea.

Palavras-chave: Adolescentes; Anticoncepcional oral; Densidade óssea; Osteocalcina; Fosfatase Alcalina; Remodelação óssea.

## DEDICATÓRIA

A Deus, meu refúgio e minha fortaleza.

Aos meus pais,

Guilherme Baptista Bisi (*in memóriam*)

Sarah Maria da Conceição (*in memóriam*)

Fonte de amor incondicional, pela difícil tarefa de educar e que me ajudaram a chegar onde estou.

Ao meu marido Domingos de Rizzo Júnior, pelo apoio e incentivo.

Aos meus filhos João Pedro e Marina pelo tempo em que não pude estar ao lado deles.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial a **Profa Adjunta Tamara Beres Lederer Goldberg**, pela oportunidade de realizar este trabalho, pela dedicação e pela incansável busca do saber e pelo progresso que alcancei ao longo dessa trajetória, sem dúvida, uma grande pesquisadora e orientadora, uma mãe nos momentos difíceis, acolhedora, mas também exigente. Obrigada por ter acreditado em mim.

**Ao Prof. Adriano Dias, a Profa Eliana Aguiar Petri Nahás e a Profa Maria Regina Bentlin** pela participação na banca de qualificação deste trabalho e pelas importantes sugestões fornecidas na ocasião.

A mestre **Maria Regina Moretto de Oliveira, a Prof<sup>a</sup> Cilmery Suemy Kurokawa** e todos do laboratório experimental da Pediatria em especial a Corina Julieta Correa Tomasetti e ao Rogério Aparecido Monteiro que colaboraram na coleta dos exames, no transporte e nas sugestões.

**Ao Prof. Hélio Nunes e ao Prof. José Eduardo Corrente** pela elaboração da análise estatística, pela paciência e disponibilidade.

A **Cinthia Scolástico C. de Souza** do Escritório de Apoio à Pesquisa, pela disponibilidade e prontidão em nos ajudar.

**Ao Prof. Bahige Fadel** pelas correções, revisões ortográficas e sugestões para melhor exibição dessa tese.

**Ao Paulo César Lopes e ao Fabiano Luís Michelin**, funcionários do Departamento de Pediatria, pelas sugestões e correções da aula em PowerPoint e editoração deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

A todos os **funcionários do RX da FMB** pelos exames de densitometria óssea realizados, pelo cuidado e atenção dispensada a todos os adolescentes que participaram do estudo.

A todos os **funcionários da Biblioteca**, pela elaboração da ficha catalográfica, revisão bibliográfica e pela rapidez em nos atender.

**Aos adolescentes e aos seus responsáveis** por comparecerem nas coletas dos exames por manter o acompanhamento e por confiar no

nosso trabalho. A todos os **amigos, colegas e funcionários dos Departamentos de Pediatria e Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia** que me apoiaram para a elaboração e conclusão dessa tese.

Agradeço também a **FAPESP**, pelo Auxílio Pesquisa cujo processo foi, 14/14294-9 e 15/04040-2, sem o qual não teria sido possível a realização deste trabalho.

## EPÍGRAFE

***“Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse amor, seria como o metal que soa ou como o sino que tine. E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria.”***

(1 Coríntios 13.1,2)

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar prospectivamente as repercussões sobre o metabolismo ósseo de adolescentes de 12 a 20 anos incompletos usuárias de anticoncepcional hormonal oral de baixa dosagem (ACO), contendo EE 20 µg/Desogestrel 150 µg ou EE 30 µg/Drospirenona 3 mg, por período de um ano, confrontando os resultados aos obtidos entre adolescentes saudáveis não usuárias de ACO.

**Casuística e Métodos:** Trata-se de um estudo quase experimental. As adolescentes incluídas foram divididas em três grupos: grupo ACO1 (EE 20µg/Desogestrel 150 µg) composto por 42 adolescentes, grupo ACO2 (EE 30 µg/ Drospirenona 3 mg) com 66 participantes e 70 que compuseram o grupo controle. Todas as adolescentes no momento de inclusão foram submetidas à avaliação antropométrica, densitométrica (DXA), obtendo-se densidade (DMO) e conteúdo mineral ósseo (CMO) de coluna lombar, corpo total e subtotal, massa magra, massa de gordura e % de gordura, realizado RX de idade óssea. Foram convidadas para a coleta sanguínea, obtendo-se os marcadores de formação óssea, osteocalcina (OC) e fosfatase alcalina óssea (FAO). Após 12 meses de uso dos ACOs, as adolescentes foram submetidas a nova avaliação semelhante à do momento inicial e solicitação de dosagem de β Estradiol, após seis meses de uso dos contraceptivos. Para a comparação entre as variáveis dos grupos de não usuárias e usuárias de ACO1 e ACO2, no momento basal, utilizou-se o teste de Kruskal Wallis e, para a comparação entre os grupos ACO1 e ACO2, na linha de base, o teste de Mann-Whitney foi utilizado. Tanto no momento basal, como na comparação momento basal e 12 meses de uso dos ACOs, o teste de Wilcoxon, fixado o nível de significância em 5%. Para estudar o efeito da idade sobre as variáveis nutricionais, densitométricas e sobre as concentrações dos marcadores ósseos nas adolescentes não usuárias de contraceptivos (controles), realizou-se Análise de Regressão Linear. Para todos os testes aceitou-se significância quando  $p < 0,05$ .

**Resultados:** No momento inicial do estudo, não foi observada diferença estatisticamente significativa em relação às variáveis analisadas entre os



grupos ACO1, ACO2 e controle, à exceção do percentual de gordura corporal, quando as adolescentes do grupo ACO2 diferiram das controles e do grupo ACO1. Pela análise da Regressão Linear Simples evidenciou-se que, para estudar o efeito de todos os indicadores em função da idade, no grupo controle, para cada ano de idade cronológica a mais, encontrou-se um acréscimo na idade óssea de 1,04 anos, 3,42 kg de peso, 1,33 kg/m<sup>2</sup> de IMC e, de 0,1m na altura. Quanto às variáveis densitométricas analisadas, constatou-se diferenças estatísticas significativas nas DMO de coluna lombar, corpo total e subtotal, com acréscimo de 0,06 g/cm<sup>2</sup> em cada ano a mais. Observou-se acréscimos nos CMO de coluna lombar, corpo total e subtotal, de 3,22g, 117,21g e 89,36g respectivamente, com diferenças significativas,  $p < 0,001$ . Quanto à massa de gordura e massa magra, também houve incremento. No tocante aos marcadores de formação óssea (FAO, OC) constatou-se uma redução na concentração da FAO de -5,19U/L, estatisticamente significante. Em relação à OC, não houve diferença significativa. Quando as medianas das variáveis antropométricas, densitométricas ósseas, de composição corporal e as concentrações dos marcadores ósseos FAO e OC obtidas no momento basal foram confrontadas às obtidas após 12 meses, entre adolescentes expostas às duas formulações de ACO, observou-se que houve diferença estatística em relação à idade cronológica e a idade óssea. Quanto às demais variáveis analisadas, constataram-se diferenças significativas entre as variáveis antropométricas peso e IMC, nos dois grupos e, na estatura para o grupo ACO2 e, não se observou diferenças para o percentil do IMC e escore z de IMC. Quanto às variáveis obtidas pela DXA, nos diversos sítios analisados, na comparação momento basal e um ano, entre as usuárias de ACOs, não se constatou diferenças significativas para DMO e CMO lombar, DMO e CMO corpo total e DMO e CMO subtotal para o grupo ACO2 e de todas as mesmas variáveis, a exceção do CMO de corpo total para o grupo ACO1,  $p=0,001$ . No tocante às concentrações dos biomarcadores de formação óssea (FAO, OC), verificou-se uma redução nas medianas da FAO na comparação momento basal frente a um ano de uso no ACO1 e ACO2, com diferença significativa,  $p=0,040$  e  $p<0,001$ . Reduções nas concentrações de

osteocalcina também puderam ser observadas 12 meses após, no grupo ACO1,  $p=0,002$ , e no ACO2,  $p<0,001$ .

**Conclusão:** O uso das duas formulações de contraceptivos hormonais orais de baixa dosagem, após um ano de seguimento, se associa a efeitos negativos sobre a massa óssea, com incrementos na densidade e conteúdo mineral ósseo aquém daquele evidenciado para essa faixa etária e com redução significativa das concentrações dos marcadores ósseos de formação (FAO e OC), quando os resultados são confrontados com os advindos de adolescentes controles não usuárias de contraceptivos.

**Palavras chaves:** adolescentes, anticoncepcionais orais, densidade óssea, osteocalcina, remodelação óssea.

---

## **Abstract.**

**Objective:** The objective of this study was to evaluate prospectively the repercussions on bone metabolism of incomplete adolescents from 12 to 20 years old, using oral low-dose hormonal contraceptive (COC), containing EE 20 µg/Desogestrel 150 µg or EE 30 µg Drospirenone 3 mg, for one year period, comparing the results to those obtained among healthy adolescents who did not use COC.

**Case study and methods:** This was a quasi-experimental study. The enclosed adolescents were divided into three groups: COC1 group (EE 20 µg Desogestrel 150 µg) compounded of 42 adolescents, COC2 group (EE 30 µg Drospirenone 3 mg) with 66 participants and 70 who composed the control group. All the adolescents at the moment of the inclusion were submitted to the anthropometric, densitometric (DXA) evaluation, obtaining bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) of lumbar spine, total and subtotal body lean mass, fat mass and % fat, performed XR bone age. They were invited to the blood collection, obtaining markers of bone formation, osteocalcin (OC) and bone alkaline phosphatase. After 12 months of COCs use, the adolescents were submitted to a new similar evaluation to that one of the initial moment and request of  $\beta$  Estradiol dosage, after six months of contraceptive use. For the comparison between the variables of the non-users and users of COC1 and COC2 at baseline, the Kruskal Wallis test was used and, for the comparison between the groups COC1 and COC2 at baseline, Mann-Whitney test was used. Either at baseline or in the comparison baseline, and 12 months of use of the COCs, the Wilcoxon test, set the level of significance at 5%. To study the effect of age on the nutritional variables, densitometric measurements and on the concentrations of bone markers in non-users adolescents of contraceptives (controls), Linear regression Analysis was performed. For all tests meaningfulness was accepted when  $p < 0.05$ .

**Results:** At the initial moment of the study, it wasn't observed statistically significant difference in relation to the analyzed variables, between COC1 and COC2 and control groups, except for the percentage of body fat, when the adolescents of the COC2 group differed from the controls and the COC1 group. By the analysis of Simple Linear Regression it was evidenced that, in order to study the effect of all indicators on the basis of age, in the control group for each additional year of chronological age, there was an increase in the bone age of 1.04 years, 3.42 kg of body weight, 1.33 kg/m<sup>2</sup> of BMI and, 0.1 m in height.

Regarding to the densitometric variables analyzed, significant static differences were found in lumbar spine BMD, total and subtotal body, with an increase of 0.06 g/cm<sup>2</sup> in each additional year. There were increases in lumbar spine BMD, total and subtotal body, of 3.22 g, 117.21 g and 89.36g respectively, with significant differences,  $p < 0.001$ . As regards to fat mass and lean mass, there was also an increase. Concerning to markers of bone formation (FAO,OC) there was a reduction in the FAO concentration of 5.48 U/L, statistically significant. There was no significant difference in relation to OC. When the medians of the variable anthropometrics, bone densitometrics of body corporal composition and the concentrations of the bone markers FAO and OC obtained at baseline were compared to those obtained after 12 months, among adolescents exposed at the two COC formulations, it was observed that there was statistical difference regarding to chronological age and bone age.

As for the other variables analyzed, there were significant differences between the anthropometric variables weight and BMI, in both groups and, in stature for the COC2 group and no differences were observed for the BMI percentile and BMI z score. Regarding to the variables obtained by the DXA in several analyzed sites in comparison of baseline and one year, among the users of COCs, there were no significant differences for BMD and Lumbar BMC, BMD and BMC total body and BMD and BMC subtotal for the group COC2 and of all the same variables, except for the total body BMC for the COC1 group,  $p = 0.001$ . In regard to the concentrations of bone formation

biomarkers (FAO,OC), there was a reduction, in the medians of the FAO in baseline compared to one year of use in COC1 and COC2, with a significant difference,  $p=0.040$  and  $p < 0.001$ .

Reductions in osteocalcin concentrations could also be observed 12 months later, in the COC1 group,  $p= 0.002$ , and in COC2,  $p < 0.001$ .

**Conclusion:** The use of two formulations of low-dose oral hormonal contraceptives, after one year of follow-up is associated to negative effects on bone mass, with increases in density and bone mineral content short of that evidenced for this age group and with a significant reduction in the concentrations of bone markers of formation (FAO and OC), when the results compared to those coming from control adolescents non users of contraceptives.

**Keywords:** adolescents, oral contraceptives, bone density, osteocalcin, bone remodeling.

---

## TABELAS

- Tabela 1** Comparação entre variáveis de adolescentes pertencentes ao grupo controle e grupo de usuárias de contraceptivos contendo 20µgEE/150µg Desogestrel (ACO1) e 30EE µg/3mg Drospirenona (ACO2) no momento basal.. .40
- Tabela 2** Estudo de Regressão Linear para estudar o efeito sobre as variáveis nutricionais, densitométricas e dos marcadores ósseos de adolescentes não usuárias de contraceptivos (grupo controle) em função da idade .....41
- Tabela 3** Comparação entre as variáveis antropométricas, densitométricas e dos marcadores ósseos de adolescentes pertencentes aos grupos ACO1 e ACO2 no momento basal e 12 meses. ....42

---

## ANEXO

<b>Anexo I</b> Parecer do Projeto “ Comparação entre as densidades minerais ósseas de adolescentes usuárias de duas formulações de anticoncepcionais hormonais de baixa dosagem e sua relação com os marcadores ósseos de formação e reabsorção” na Plataforma Brasil com o Número CAAE 52928416.6.00005411 .....	59
---	----

---

## **ABREVIATURAS**

**ACO** Anticoncepcional Oral Combinado

**AR** Receptor Androgênico

**CMIA** Imunoensaio de Micropartículas por Quimioluminescência

**CMO** Conteúdo Mineral Ósseo

**CTX** Telepeptídeo Carboxi – Terminal tipo 1

**DMO** Densidade Mineral Óssea

**DXA** Densitometria Óssea

**EE** Etinilestradiol

**EIA** Enzima Imuno Ensaio

**ERs** Receptores Estrogênicos

**FAO** Fosfatase Alcalina Óssea

**FSH** Hormônio Folículo Estimulante

**GH** Hormônio do Crescimento

**GR** Receptor Glicocorticóide

**GNRH** Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

**IBGE** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

**IGF-1** Fator de Crescimento semelhante à Insulina Tipo 1

**IL** Interleucinas

**IMC** Índice de Massa Corporal

**IO** Idade Óssea

**ISCD** Internatinal Society for Clinical Densitometry

**LH** Hormônio Luteinizante



**OC** Osteocalcina

**OPG** Osteoprogenina

**PHBMC** Pico Máximo de Velocidade de incremento do Conteúdo de Massa óssea

**PHV** Pico Máximo de Crescimento

**PINP** Procolágeno Tipo 1 de Propeptídeo-aminoterminal

**PNPP** p Nitrofenilfosfato

**S-CTX** Telo-peptídeo Carboxiterminal

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	28
2.1 Objetivo geral .....	28
2.2 Objetivos específicos .....	28
<b>3. CASUÍSTICA E MÉTODOS</b> .....	29
3.1 Sujeitos .....	29
3.1.1 Cálculo Amostral .....	29
3.2 Critérios de Inclusão .....	31
3.3 Critérios de Não Inclusão .....	31
3.4 Critérios de Exclusão .....	32
3.5 Antropometria .....	33
3.6 Exame Clínico e Avaliação dos Caracteres Sexuais Secundários .....	33
3.7 Radiografia de Mão e Punho .....	33
3.8 Densitometria Óssea .....	34
3.9 Marcadores Bioquímicos de Formação Óssea .....	34
3.10 Dosagem de Estradiol Sérico .....	36
3.11 Análise estatística .....	37
<b>4. RESULTADOS</b> .....	38
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	43
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	49
<b>7. CONSIDERAÇÕES</b> .....	50
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	51
<b>9. ANEXOS</b> .....	59

---

## 1. INTRODUÇÃO

A gravidez que ocorre na adolescência é um dos mais importantes fatores de perpetuação da pobreza e da exclusão social (WHO, 2014).

Pesquisa realizada pelo IBGE (2012), demonstrou que, no Brasil, 28,7% dos adolescentes de 13 a 15 anos de idade já tinham vida sexual ativa. A taxa de gravidez número de nascimentos para cada mil meninas, era de 20,9 no ano 2000, caindo para 17,7 em 2011. Embora tenha caído a taxa de fecundidade de adolescentes, ela ainda se mantém muito acima do desejável. Dados do Ministério da Saúde de 2009 mostram que 2,8% das meninas entre 12 e 17 anos já tiveram filhos, sendo a incidência maior entre aquelas de 14 anos ou menos, com uma taxa de natalidade de 9,6 para cada mil nascidos vivos. Entre jovens de 15 a 19 anos, de 2000 a 2009, houve uma redução da taxa de fecundidade de 34,6%, no Brasil. Acredita-se que essa diminuição seja decorrente da maior escolaridade das meninas e melhor perspectiva de entrada no mercado de trabalho, pelos cuidados dispensados à sua saúde e pela possibilidade de acesso ao controle da natalidade.

Assim, deixar de divulgar e prescrever medidas que colaborem nessa perspectiva seria um retrocesso. Seria ignorar um grave problema de saúde pública. Entre os possíveis métodos de controle da natalidade, encontram-se os contraceptivos hormonais, sendo o contraceptivo hormonal oral o segundo método mais utilizado entre as mulheres.

Diante da necessidade inquestionável de seu uso, os resultados relativos a possível comprometimento de aquisição da massa óssea em adolescentes devem ser amplamente avaliados, para que se dimensione o risco potencial de osteopenia/osteoporose em idades mais avançadas.

Sabe-se que a adolescência corresponde ao período da vida compreendido entre os 10 anos completos e 20 anos incompletos, segundo recomendações promulgadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2000). Essa fase, que compreende a segunda década de vida, é caracterizada por profundas transformações físicas e psicossociais que marcam a transição entre a infância e a idade adulta. Assim, esse período se caracteriza por alterações em diversos níveis: físico, biológico, mental, espiritual, social etc. e representa, para o indivíduo, um processo de distanciamento de formas de comportamento e

---

privilégios típicos da infância e de aquisição de características e competências que o capacitam a assumir os deveres e papéis sociais do adulto (Oerter e Dreher, 2002).

As mudanças físicas que se manifestam durante a adolescência transcorrem em um período relativamente curto, com cerca de dois a quatro anos de duração, conhecido como puberdade, no qual ocorrem todas as modificações biológicas dessa fase de transição, culminando com a aquisição da capacidade reprodutiva do indivíduo (WHO, 1986).

Há muitas controvérsias sobre a complexa dinâmica do início da ativação do eixo hormonal envolvido no desencadear da puberdade. Sabe-se que esse momento se inicia após a reativação dos neurônios hipotalâmicos, que secretam de forma pulsátil e bastante específica o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) que atua sobre a hipófise anterior, estimulando a liberação do hormônio luteinizante (LH) e do hormônio folículo estimulante (FSH), também de forma pulsátil. Estes, por sua vez, atuam no ovário estimulando a liberação de hormônios sexuais (estrogênio e testosterona) (Eisenstein, 2008). O crescimento e o desenvolvimento físico, no entanto também sofrem influência de fatores inerentes ao próprio indivíduo (constitucionais ou intrínsecos), e a outros representados por circunstâncias ambientais, que podem induzir modificações nesse processo.

É durante a puberdade que ocorre o processo de aceleração e desaceleração do crescimento esquelético, estando este intimamente relacionado com o grau de maturação sexual (estágio de desenvolvimento puberal) em que se encontra o adolescente, bem como, com as modificações da composição corporal (Tanner, 1969; Neinstein, 2002).

O estrogênio, como relatado anteriormente, tem papel fundamental sobre o crescimento longitudinal do osso, exercendo reconhecida influência sobre a placa epifisária. Assim, resultante de sua atuação, evidencia-se um aumento na velocidade de crescimento durante o estirão pubertário, em decorrência de concentrações baixas de estrogênio entre 13 e 31pmol/L, quando do início do estirão observado em meninas em fase inicial de sua puberdade (Grumbach, 2000; Albin et al., 2012). Além dessa função, o estrogênio também atua aumentando a secreção pulsátil do hormônio de crescimento (GH), com conseqüente aumento do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1). Na seqüência, a persistência de altos níveis estrogênicos, observados no decorrer da puberdade,

---

promovem a exaustão proliferativa dos condrócitos e fusão epifisária, determinando o final do crescimento (Weise et al., 2001; Riggs et al., 2002; Emons et al., 2010). Ainda, em fase pouco posterior a este processo de aceleração do crescimento longitudinal do osso, observar-se-á o pico máximo de crescimento (PHV), evento que será acompanhado por um interstício de talvez sete ou mais meses, para que se atinja o pico máximo de velocidade de incremento do conteúdo de massa óssea (PHBMC), que também sofre influência estrogênica, sendo, além disso, simultaneamente sensível a toda cascata hormonal produzida pelo indivíduo, nessa fase da vida (Vatanparast e Whiting, 2005; Albin et al., 2012).

A aquisição de uma adequada massa óssea durante a infância e adolescência apresenta-se como um fator de proteção à saúde esquelética do adulto (Rizzoli et al., 2010). Um dos fatores de risco para a constatação de osteopenia/osteoporose e de fraturas por fragilidade durante a adultícia e senilidade é a observação da baixa densidade mineral óssea ou de sua não preservação durante os anos citados. Há uma redução natural da massa óssea a partir dos 50 anos de idade, aumentando a probabilidade da ocorrência de osteoporose e, conseqüentemente, tornando os ossos mais susceptíveis ao desarranjo de sua microestrutura e às fraturas. Outro fator agravante para as mulheres é a menopausa, quando chegam a perder entre 5 e 15% da massa óssea adquirida, montante esse observado nos primeiros cinco anos pós menopausa, em virtude da diminuição dos níveis estrogênicos (Warholm et al., 2012).

Um exemplo do que vem ocorrendo em todo mundo, e também no Brasil, é a troca de alimentos saudáveis lácteos por bebidas carbonatadas, os refrigerantes. A troca do leite por refrigerantes ou por sucos ou bebidas energéticas causa alta preocupação, principalmente quando presente na infância e adolescência, pois, resultante desse comportamento alimentar, a ingestão de cálcio dietético tem diminuído na maioria das faixas etárias. Diante do que se expôs, ocorre um lapso entre a recomendação de ingestão de cálcio (DRI, 2011) e o consumo habitual das crianças, especialmente entre 9 e 18 anos de idade. A ingestão média desse grupo varia entre 700 e 1000 mg/dia, em países desenvolvidos, sendo inferior a 700mg, geralmente, naqueles provenientes de países em desenvolvimento, com ingestão pouco maior entre os adolescentes do sexo masculino frente às adolescentes. Evidencia-se, também, uma relação de ingestão reduzida de cálcio com a precarização da condição sócio-econômica, bem

---

como com a situação nutricional da população de adolescentes avaliados (American Academy of Pediatrics, 1999; Silva et al., 2004; Goldberg et al., 2009).

Quando os alimentos consumidos seguem as recomendações promulgadas, observa-se que dois terços do cálcio da dieta são provenientes de leite e derivados. A substituição do leite por bebidas pobres em cálcio, assim como alterações na relação cálcio/fósforo irão comprometer o indivíduo em crescimento, interferindo no processo de alcance de seu pico máximo de incremento de massa óssea, programado geneticamente. Na atualidade, parece praticamente impossível aumentar o pico de massa óssea na vida adulta, ou seja, se o indivíduo em desenvolvimento não adquirir a quantidade de massa óssea no momento adequado, talvez sua saúde e qualidade de vida sejam comprometidas indelevelmente, em momento futuro. Ainda se pode destacar que cerca de 40 a 45% da massa óssea evidenciada na fase da adultícia é adquirida durante a adolescência (Bailey et al., 2000).

No tocante ao momento de aquisição do pico de massa óssea, deve-se ressaltar que ele difere em relação ao sítio esquelético avaliado, bem como, apresenta dimorfismo sexual. As adolescentes do sexo feminino têm maior incremento de massa óssea entre 13 e 14 anos, ou quando no estágio 3 de Tanner, e os adolescentes do sexo masculino entre 14 e 15 anos, ou quando no estágio 4 de Tanner (Bailey et al., 2000; Silva et al., 2007; Moretto et al., 2011; Fortes et al., 2014).

Diante do que foi explanado e da complexidade do metabolismo ósseo, sabe-se que o tecido ósseo é o principal constituinte do esqueleto e tem função de sustentar o organismo, bem como promover a sua locomoção, como também proteger o sistema nervoso e a medula óssea, considerada sua função biomecânica. Sabe-se também que exerce a função de contribuir para a regulação da composição do espaço extracelular, especialmente a concentração de cálcio iônico, fósforo e carbonato, cooperando na manutenção do equilíbrio ácido-básico, reconhecida como função metabólica (Giacaglia, Martin, Silva, 2011).

Anatomicamente, podem-se distinguir dois tipos de ossos no esqueleto: planos e longos. No osso longo, temos a parte externa, formada por um revestimento denso de tecido calcificado, reconhecido como osso cortical (osso compacto). Sua principal função é promover força mecânica e proteção. Quando em direção à metáfise e à epífise, adelgaça-se progressivamente, tendo seu

---

espaço interno ocupado por uma rede de trabéculas calcificadas finas, denominada osso esponjoso ou trabecular. O osso esponjoso apresenta como principal função a metabólica (Seeman,1997; Giacaglia; Martin; Silva, 2011).

Os ossos são revestidos em suas superfícies externas, periósteeo e internas, endósteeo, por membranas conjuntivas que possuem células osteogênicas. A camada mais superficial do periósteeo é formada principalmente por fibras colágenas e fibroblastos. Na camada interna do periósteeo encontram-se células osteoprogenitoras, que se multiplicam e se diferenciam em osteoblastos, responsáveis pelo crescimento dos ossos e reparação de fraturas. O endósteeo é geralmente constituído por uma camada de células osteogênicas achatadas revestindo as camadas do osso esponjoso e o canal medular (Giacaglia; Martin; Silva, 2011).

O osso é um tecido extremamente dinâmico e, durante toda a vida do ser humano, ocorre o processo de formação e reabsorção óssea. Na infância e adolescência, períodos em que ocorre o crescimento esquelético, a reabsorção e formação produzem mudanças no tamanho e na forma do osso, num processo conhecido como modelação; a reabsorção e a formação ocorrem de forma diversa em diferentes locais e em diferentes momentos e, são considerados processos acoplados (Saraiva e Lazaretti-Castro, 2002; Seibel, 2007).

No processo de modelação, os osteoblastos localizados no periósteeo da cortical sintetizam o rebordo osteoide que, posteriormente, se mineraliza, aumentando a circunferência exterior de um osso longo ou de um corpo vertebral. Concomitantemente, os osteoclastos reabsorvem osso na superfície interna (endocortical) do córtex, deste modo, aumentando o tamanho da cavidade medular. Durante a modelação, os osteoclastos normalmente removem menos tecido ósseo, depositado pelos osteoblastos, permitindo que durante o crescimento, ocorra um aumento na massa óssea. Simultaneamente ocorre o processo de remodelação óssea: a formação óssea somente acontece nos locais onde houve anteriormente reabsorção, com o novo osso ocupando o mesmo local anatômico que o antigo (Eapen et al., 2008).

Vários marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo têm sido descritos (Lehtonen-Veromaa et al., 2000): Procolágeno tipo I de propeptídeo aminoterminal (PINP), enzima fosfatase alcalina óssea (FAO) e produtos derivados da síntese da matriz óssea, como osteocalcina (OC), como marcadores de

formação óssea dependentes da ação dos osteoblastos. Por outro lado, cálcio urinário, hidroxiprolina urinária, fosfatase ácida tartarato-resistente e moléculas interligadoras do colágeno tipo I, como o telopeptídeo carboxiterminal (S-CTX), são reconhecidos como marcadores de reabsorção óssea, resultantes da ação dos osteoclastos.

Estudos indicam que crianças e adolescentes apresentam níveis elevados de marcadores ósseos quando comparados às concentrações observadas em adultos, evento resultante do crescimento linear e do intenso "turnover" ósseo verificados nessas fases da vida (Rauchenzauner et al., 2007; Eapen et al., 2008).

Além do papel diagnóstico e da possibilidade de se inferir sobre riscos de desenvolver doenças osteometabólicas, os marcadores bioquímicos constituem importantes ferramentas no acompanhamento evolutivo dessas doenças e das respostas aos medicamentos utilizados em sua contenção. Quando aliados à avaliação da densidade mineral óssea, têm sido apontados como excelente recurso quanto à aquisição do pico de massa óssea e intercorrências sofridas durante todas as fases da vida, que se associam à perda da massa óssea, desde a infância até o climatério e o envelhecimento (Rauchenzauner et al., 2007; Fortes, 2012; Fortes et al., 2014).

A densitometria óssea (DXA), técnica quantitativa de avaliação da massa óssea, é um exame realizado em poucos minutos, de custo relativamente baixo, com utilização de baixa quantidade de radiação (de 1 a 6  $\mu$ rem) e erro de precisão de 1 a 3 %, dependendo da região analisada, sendo a coluna lombar o local de menor erro (Lash et al., 2009; Dasher et al., 2010). Essas qualidades fazem da DXA o exame escolhido pela OMS para o diagnóstico e acompanhamento da osteoporose em adultos (Kanis, 2007). A *International Society for Clinical Densitometry* (ISCD), em suas recomendações oficiais, também orienta a DXA como método preferencial para avaliação da densidade mineral óssea em crianças e adolescentes, apontando a região da coluna lombar e o corpo total sem o segmento cefálico como os locais de melhor acurácia (Gordon et al., 2008; ISCD, 2010, 2013).

Estudos recentes, realizados com jovens do sexo masculino e feminino, evidenciam a relação entre os marcadores de remodelação óssea como preditores do desenvolvimento do conteúdo mineral ósseo (CMO) e da densidade mineral óssea (DMO), no período de incremento máximo de massa óssea. Os



pesquisadores observaram que tanto as concentrações dos marcadores de formação como as dos de reabsorção foram maiores nos anos de início da puberdade, quando comparados aos obtidos em estágio avançado do desenvolvimento puberal (Gracia-Marco et al., 2010; Silva et al., 2011; Goldberg et al., 2012; Fortes et al., 2014). Dessa forma, hábitos saudáveis, como adequada ingestão de cálcio, segundo as recomendações próprias a esse segmento etário, não fumar, não ingerir bebidas alcoólicas e a prática de atividade física durante o período de maior aquisição de massa óssea, são fundamentais para a manutenção da saúde do esqueleto. Sabe-se ainda que a massa óssea sofre influência étnica, bem como, pode estar exposta à atuação da prescrição e consumo de medicamentos, entre eles, alguns utilizados no controle das epilepsias, a utilização prolongada de corticosteroides, entre tantos outros, além do uso de contraceptivos hormonais. Esses últimos têm sido recomendados em idades cada vez mais precoces, resultando em proteção às jovens quanto ao advento de gravidez não planejada, quando do início da atividade sexual (Vieira et al., 2007). Apresenta no entanto, possíveis efeitos sobre o incremento da massa óssea, o que resulta em distúrbio à remodelação óssea (Eapon et al., 2008; Biazon et al., 2015).

No tocante a esse último grupo de medicamentos, os contraceptivos hormonais, podem conter estrogênios e progestagênios. Divulga-se que o estrogênio tem um papel fundamental na mineralização óssea e na manutenção da massa óssea. Assim, tem sido relatada a presença de receptores estrogênicos nos osteoclastos, reduzindo-se, na sequência, a formação osteoclástica (osteoclastogênese), o que resulta em menor reabsorção óssea, com aumento da apoptose dessas células. Além disso, os estrogênios atuam nos receptores presentes nos osteoblastos, onde apresentam efeitos positivos na formação, diferenciação, proliferação, conseqüentemente, ocorre estimulação à formação óssea (Kusec et al., 1998; Bord et al., 2001). É evidente a participação desse hormônio no processo de remodelação óssea (Ferreira et al., 2000; Gai et al., 2012). Atuação mais específica do  $17\beta$  estradiol foi demonstrada em cultura de células quando negativamente modula os osteoclastos, ação essa mediada indiretamente pela supressão dos osteoclastos na produção de vários fatores reabsortivos parácrinos pró-inflamatórios, tais como, a interleucinas IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  e por atuação direta nos osteoblastos, através da mediação de receptores estrogênicos (ERs), presentes nas células alvo (Taranta et al., 2002; Viereck et al., 2003). Além dos mecanismos citados, divulga-se que o estradiol aumenta a produção da osteoprotegerina (OPG) pelo osteoblasto, pela ativação de receptores

---

de estrogênio, ER $\alpha$ , sendo a citocina OPG considerada um potente inibidor da reabsorção óssea, por atuação no RANK L (Vierecket et al., 2003).

Nesse contexto, as estatísticas mundiais revelam um aumento do uso de contraceptivos hormonais combinados entre as adolescentes. Isso tem gerado questionamentos: se a quantidade de estrogênio na sua formulação é adequada a esse grupamento etário, quanto ao desenvolvimento ósseo e obtenção de um pico de massa óssea adequado. Muitas das pesquisas divulgadas sobre o tema apresentam uma gama de inclusão de mulheres com idades diversas, quando são analisadas, muitas das vezes, incluindo conjuntamente adolescentes, jovens e até adultas jovens, além de situações diversas de momentos de crescimento e mineralização óssea, o que resulta em dificuldades na interpretação dos resultados, em função dos vários pontos ressaltados (Warholmat et al., 2012).

Dentre os estudos com delineamento mais preciso, observa-se o realizado por Pikkarainen e colaboradores, que acompanharam adolescentes de 12 a 19 anos divididas em três grupos: dois grupos de usuárias de contraceptivos hormonais orais (ACO) que se diferenciavam pelo tempo de uso, um grupo que utilizou por um a dois anos e outro por mais de dois anos, ambos frente a um grupo controle. Após quatro anos de seguimento, todos os grupos tiveram um aumento estatisticamente significativo da DMO em relação ao momento de inclusão no estudo; o grupo controle teve, porém, uma aquisição óssea mais elevada quando comparado ao grupo que fez uso por mais de dois anos do contraceptivo (Pikkarainen et al., 2008).

Em outro estudo realizado por Beksinska e colaboradores, no qual as adolescentes faziam uso do mesmo ACO por um período de 6 meses, os autores não observaram diferença estatística na DMO entre as usuárias de ACO frente ao grupo controle, mas ao final de quatro a cinco anos de seguimento, evidenciaram um aumento da DMO estatisticamente significativo nas adolescentes que não faziam uso do contraceptivo (Beksinska et al., 2007, 2009).

Cromer e colaboradores acompanharam por um ano adolescentes que iniciaram uso de ACO e compararam com grupo controle, concluindo que as do grupo controle incrementavam de forma mais intensa sua DMO na coluna lombar, quando comparadas as usuárias de ACO, sendo este resultado estatisticamente significativo (Cromer et al., 2004).

Diante de toda explanação realizada e sabendo da importância que o estrogênio apresenta sobre o incremento da massa óssea, bem como, de sua atuação no tocante à remodelação óssea, evidencia-se a necessidade de desenvolver estudos prospectivos especificamente voltados à adolescência, momento sabidamente de maior aquisição de massa óssea, para que se possam avaliar os efeitos dos contraceptivos hormonais sobre a saúde óssea desse recorte etário e delinear possíveis resultados futuros.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar prospectivamente as repercussões sobre o metabolismo ósseo de adolescentes de 12 a 20 anos incompletos, usuárias de ACO de baixa dosagem (EE 20 µg/Desogestrel 150 µg) e de (EE 30 µg/Drospirenona 3 mg), por período de um ano, frente a resultados provenientes de adolescentes saudáveis não usuárias de ACO.

### 2.2 Objetivos específicos

– Avaliar a Densidade Mineral Óssea (DMO) e o Conteúdo Mineral Ósseo (CMO) da região lombar, do corpo total e do corpo subtotal (sem o segmento cefálico) de adolescentes do sexo feminino de 12 a 20 anos incompletos, usuárias de ACO de baixa dosagem padronizado (EE 20 µg/Desogestrel 150 µg) e (EE 30 µg/ Drospirenona 3 mg), por período de um ano de seu uso.

– Comparar resultados obtidos pela avaliação das DMO e CMO em adolescentes usuárias de ACO, pelo tempo programado, com resultados provenientes de adolescentes saudáveis do mesmo sexo e faixa etária, não usuárias de ACO.

– Avaliar os marcadores de formação (Osteocalcina e Fosfatase Alcalina Óssea ) de adolescentes do sexo feminino de 12 a 20 anos incompletos, usuárias de ACO de baixa dosagem padronizado (EE 20 µg/Desogestrel 150 µg) e (EE 30 µg/ Drospirenona 3 mg) por período de um ano de seu uso.

– Comparar dados obtidos pela avaliação dos biomarcadores ósseos propostos obtidos de adolescentes usuárias de ACO (EE 20 µg/Desogestrel 150 µg) e (EE 30 µg/Drospirenona 3 mg) pelo tempo programado, com resultados provenientes de adolescentes saudáveis do mesmo sexo e faixa etária, não usuárias de ACO.

### 3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

#### 3.1 Sujeitos

##### 3.1.1 Cálculo Amostral

Para o cálculo amostral de adolescentes a serem incluídas em todos os grupos propostos no atual estudo, realizamos pré-teste quando foram obtidos marcadores de formação óssea (FAO e OC), em um grupo que utilizou EE 20 µg/Desogestrel 150 µg, por um período de um ano, tendo-se observado uma redução média da FAO de 11U/L  $\pm$  23, redução máxima de 74 U/L e aumento máximo de 21U/L. Para a OC, a redução média observada foi de 3ng/mL  $\pm$  7, com redução máxima de 19ng/mL e aumento máximo de 12ng/mL.

Para o pré-teste do grupo que utilizou EE 30 µg/ Drospirenona 3 mg por um período de um ano, houve uma redução média da FAO de 8 U/L  $\pm$ 11, redução máxima de 32U/L e aumento máximo de 5 U/L. Para a OC, a redução média observada foi de 4ng/mL  $\pm$ 4, redução máxima de 8 ng/mL e aumento máximo de 1ng/mL.

Supondo uma amostra aleatória simples, erros tipo I e tipo II iguais a 0,05 e 0,20, respectivamente, distribuição normal para os desfechos “redução da FAO” e “redução da OC”, em um ano, e desvios-padrão da “redução da FAO” iguais nos Grupos ACO1 e ACO2 a 23 e 11, respectivamente, serão necessárias 35 participantes por grupo, para se detectar estatisticamente uma diferença de 12 U/L na evolução da FAO entre os grupos e, para a variável, “redução da OC”, supondo desvios-padrão nos grupos ACO1 e ACO2, iguais a 7 e 4, respectivamente, serão necessários 32 por grupo, para se detectar uma diferença de 4 pontos na evolução da OC.

Trata-se de um estudo quase experimental. Assim, foram incluídas 42 adolescentes do sexo feminino, de 12 a 20 anos incompletos, que aderiram ao protocolo, voluntárias, saudáveis, pós-menarca e, portanto, em puberdade tardia (estadiamento de desenvolvimento puberal de Tanner M4 ou M5), matriculadas no ambulatório de Medicina de Adolescentes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP e que tinham indicação de orientação e prescrição de algum método contraceptivo, por apresentarem vida sexual ativa. Os métodos contraceptivos recomendados e correntemente utilizados pelos profissionais da saúde, para essa faixa etária, foram apresentados a todas as adolescentes e, por

---

opção pessoal e facilidade de uso, as mesmas escolheram o ACO. Padronizou-se o uso de ACO contendo EE 20 µg/ 150µg de Desogestrel.

Da amostra inicial, 36 adolescentes completaram o seguimento proposto de 12 meses e as demais foram excluídas desse estudo por interrupção ou descontinuidade do uso do ACO, que ocorreu devido a motivo de cunho pessoal. Entretanto todas, mesmo as excluídas da pesquisa, tiveram direito ao acompanhamento de saúde que é oferecido nesse ambulatório. As avaliações formais da referida pesquisa foram realizadas nos momentos iniciais e 12 meses após, porém as consultas no ambulatório de Medicina de Adolescentes ocorreram a cada 2 meses; nessas ocasiões, era realizada consulta médica completa, com especial atenção à adesão ao tratamento, presença de efeitos colaterais e intercorrências no período de uso do ACO. As pacientes também eram estimuladas ao uso do preservativo masculino concomitantemente ao uso do ACO, visando à proteção contra doenças sexualmente transmissíveis.

Para o segundo grupo, denominado de ACO2, foram incluídas 66 adolescentes na faixa etária compreendida entre 12 anos e 20 anos incompletos, com as mesmas características citadas para as que compuseram o ACO1, elas utilizaram outra formulação de ACO de baixa dosagem (EE 30µg/Drospirenona 3mg). Elas fizeram acompanhamento por 12 meses, sendo esse ACO fornecido gratuitamente durante todo o período de acompanhamento. As adolescentes tinham livre acesso ao mesmo ambulatório, para sanar suas dúvidas e obter esclarecimentos, além de obter o contraceptivo prescrito quando necessário. O contato com a equipe de saúde também foi realizado por meio eletrônico (e-mails) utilizado para solucionar as dúvidas e convocá-las para realização de exames quando no período programado. Além disso, os mesmos cuidados relacionados à saúde das adolescentes, apresentado para o primeiro grupo, foram desenvolvidos nesse novo delineamento.

Para realização dos exames de ambos os grupos os pais ou responsáveis pelas adolescentes receberam um documento, termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), e forneceram autorização para que as adolescentes sob sua responsabilidade pudessem participar das pesquisas. As adolescentes também estavam cientes do conteúdo da pesquisa e considerando-se voluntárias, assinaram o consentimento livre e esclarecido (assentimento).

Os resultados individuais das Densitometrias (DXA) e dos exames de idade óssea foram entregues às adolescentes de forma gratuita. Tal procedimento significou a possibilidade de conhecimento de sua massa óssea, servindo como um parâmetro para sua vida futura.

Para a construção do grupo controle, foram utilizados dados provenientes de 70 adolescentes saudáveis, do sexo feminino, sem alterações do ciclo menstrual, pertencentes às mesmas faixas etárias das que compuseram os grupos denominados ACO1 e ACO2, porém não usuárias de ACO.

O trabalho obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa, da Faculdade de Medicina de Botucatu e também foi cadastrado na Plataforma Brasil CAAE 52928416.6.00005411 (Anexo I).

O presente estudo obteve Auxílio Pesquisa Fapesp, 14/14294-9 e 15/04040-2, sendo a Profa. Tamara B. L. Goldberg a Pesquisadora Responsável junto a esse órgão de fomento.

### **3.2 Critérios de Inclusão**

Foram incluídas adolescentes do sexo feminino, matriculadas no ambulatório de Medicina do Adolescente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, e que iniciaram o uso de ACO com finalidade contraceptiva. Essas adolescentes eram previamente híginas, com estatura entre o 5° e o 95° percentil para cada faixa de idade e com índice de massa corporal (IMC) variando entre o 5° e ≤ 95° percentil, segundo curvas elaboradas pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (Kuczmarski et al., 2002). Todas as adolescentes, quer pertencessem aos grupos de usuárias de ACO ou ao das controles, não poderiam ser tabagistas nem etilistas, não estavam vinculadas a qualquer modalidade esportiva extra escolar, à exceção apenas das aulas de Educação Física do próprio colégio, com duração inferior a duas horas semanais

### **3.3 Critérios de Não Inclusão**

Como critérios de não inclusão determinou-se que não participariam do estudo: adolescentes com história de prematuridade ou baixo peso ao nascimento, as submetidas à terapia prolongada com corticoides ou que utilizassem suplementação com cálcio e /ou ferro nos últimos doze meses que antecediam a

pesquisa. Também não foram incluídas adolescentes portadoras de *diabetes mellitus*, desnutrição aguda ou crônica, doenças ósseas congênitas ou adquiridas, doenças gastrintestinais acompanhadas de má-absorção, história de nefropatia, com ou sem insuficiência renal crônica, endocrinopatias, puberdade precoce ou atrasada, consumo crônico de drogas, fibrose cística, doença celíaca, ou ainda adolescentes que utilizassem medicamentos que sabidamente afetam o metabolismo ósseo negativamente, como anticonvulsivantes e antiácidos com alumínio.

Não foram incluídas as que se utilizavam de contraceptivos hormonais anteriormente à pesquisa, as grávidas no momento de seleção ou com relato de gestação e/ou amamentação pregressa, as com contraindicação ao uso de hormônios sexuais ou as menores de 18 anos que tinham necessidade de manter o sigilo quanto à prescrição de contracepção, pela impossibilidade de obtenção do TCLE assinado por seus responsáveis.

Quanto à avaliação dietética, não foram incluídas as adolescentes que fizessem uso exclusivo de dieta vegetariana, aquelas com alto consumo de fibras, cafeína ou refrigerantes e as que não consumiam produtos lácteos diariamente.

### **3.4 Critérios de Exclusão**

Do total de 42 adolescentes incluídas no grupo que utilizou EE 20 µg/150µg de Desogestrel foram excluídas 6 que, por qualquer motivação pessoal, deixaram de utilizar os ACO como prescritos. No segundo grupo, quando utilizamos EE 30µg/Drospirenona 3mg, foram incluídas 66 adolescentes, sendo 5 excluídas, pelos mesmos motivos do primeiro grupo e, ainda, nos dois grupos, por não terem comparecido na data agendada para realização da densitometria óssea e coleta sanguínea. As adolescentes recebiam seus agendamentos de exames e eram convocadas por pelo menos três vezes, antes que excluídas.

Mesmo que excluídas do estudo, as adolescentes foram acompanhadas em todas suas necessidades no Ambulatório de Medicina do Adolescente, obtendo todos os cuidados oferecidos a todos os pacientes no tocante aos aspectos relacionados à promoção, manutenção e recuperação de sua saúde integral.



### **3.5 Antropometria**

Informações relacionadas ao peso corporal foram verificadas por meio de uma balança eletrônica da marca Filizola, com precisão de 0,1Kg. Para a obtenção da estatura, as adolescentes colocaram-se na posição ortostática, de costas para a escala de medida, com os pés unidos no centro, sobre a base do estadiômetro, com olhar dirigido para frente, sem calçados. Para obtenção dessas medidas, vestiram o mínimo de roupa possível.

Os valores da medida de estatura foram obtidos mediante um estadiômetro de madeira, com precisão de 0,1 cm. As técnicas utilizadas para a mensuração dessas variáveis foram aquelas propostas por Jelliffe (1968). Buscando obter outros indicadores nutricionais dos adolescentes, de posse das medidas de peso corporal e estatura, foi calculado o IMC mediante a relação matemática:  $IMC = \text{Peso Corporal (Kg)} / \text{Estatura (m}^2\text{)}$ .

### **3.6 Exame Clínico e Avaliação dos Caracteres Sexuais Secundários**

Foi realizado exame geral e específico dessas adolescentes, para que qualquer alteração física fosse detectada. Nesse momento, foi realizado o exame de avaliação dos caracteres sexuais secundários, através da inspeção visual de mamas e pelos pubianos. O resultado foi confrontado com os critérios de Tanner (Marshall e Tanner, 1969).

### **3.7 Radiografia de Mão e Punho**

Na sequência, foi obtida a idade óssea (IO) para a avaliação do grau de maturação esquelética de todas as adolescentes. O método utilizado foi o de Greulich e Pyle (1959), chamado de método GP, em que se faz a radiografia de mão e punho a ser posteriormente comparada com o Atlas. A interpretação foi realizada por um único avaliador habilitado para tal atividade (AST), que não foi informado a qual grupo pertencia a adolescente submetida ao exame. Esse procedimento foi realizado nas usuárias de ACO, no momento zero e após 12 meses de seguimento das adolescentes e, também, naquelas pertencentes ao grupo controle.

### 3.8 Densitometria Óssea

As adolescentes que cumpriram todas as etapas anteriores foram submetidas à avaliação da massa óssea no momento do início do uso do ACO e no final do tempo de seguimento, mediante um exame de densitometria óssea, através de uma unidade de Densitometria Óssea por atenuação de raio x de dupla energia, utilizando um aparelho Hologic QDR 4500 Discovery A (Hologic Inc., Bedford, MA). Para a adequada avaliação da massa óssea, um *software* pediátrico foi utilizado e os resultados do conteúdo ósseo foram expressos em g e os da densidade, em g/cm<sup>2</sup>. Foi realizada a mensuração das regiões da coluna lombar entre L1-L4, densitometria de corpo total e subtotal (sem segmento cefálico). Todas as avaliações foram realizadas por apenas um profissional técnico, habilitado para tal, e o mesmo, ao realizar o exame de densitometria, não era informado (avaliador cego) se a adolescente estava ou não usando algum ACO.

As adolescentes não usuárias de ACO realizaram DXA no momento de introdução ao estudo.

### 3.9 Marcadores Bioquímicos de Formação Óssea

Diante das recomendações efetuadas pela literatura, optou-se por avaliar os seguintes marcadores bioquímicos de remodelação óssea: osteocalcina (OC) e fosfatase alcalina óssea (FAO). Tal escolha foi embasada pela alta especificidade e sensibilidade apresentada pela FAO, pela OC, marcadores ósseos de formação, segundo pesquisas apresentadas pela literatura nacional e internacional (Vieira, 1999; Watts, 1999; Lethonen-Veromma et al., 2000; Seibel, 2002; Cremers Garnero, 2006) e pela tradição em pesquisa sobre ósteometabolismo, desenvolvida neste serviço, onde se utilizaram os mesmos marcadores para o gênero masculino e feminino (Goldberg et al., 2009; Silva et al., 2011; Fortes et al., 2014, Mosca et. al., 2016).

## Osteocalcina (OC)

A OC ou proteína óssea gla (GP) foi dosada pelo método Micro Vue Osteocalcin EIA (enzyme immuno assay) kit da QUIDEL® ( USA, CA, San Diego), como indicador de “turnover” ósseo. O imunoensaio é um teste de ELISA competitivo, que quantifica somente a OC intacta e não detecta fragmentos de tecido ósseo reabsorvido. Para realização desse teste utilizaram-se microplacas de 96 alvéolos previamente tratadas com osteocalcina, e sobre estes alvéolos já tratados, foram adicionados 25µL de cada padrão reconstituído, controles e amostras de soro dos indivíduos testados. Em seguida, adicionaram-se 125µl de anticorpo anti-osteocalcina, com posterior incubação de 120 minutos a temperatura ambiente e lavagem da placa com 30L de tampão de lavagem, por três vezes. Após lavagem da placa e retirada do anticorpo anti-osteocalcina, foi adicionado a IgG anti-camundongo conjugada com fosfatase alcalina, com posterior incubação, por 60 minutos, a temperatura ambiente. A placa foi lavada novamente conforme descrito anteriormente e adicionado o substrato contendo p-Nitrofenil fosfato (pNPP) para o desenvolvimento de cor, por um período de 35-40 minutos. A reação foi bloqueada com NaOH 0,5N e a leitura realizada em leitor de Elisa TP Reader, Thermo Plate; no comprimento de onda de 405 nm. A obtenção das concentrações de osteocalcina nas amostras de soro foram obtidas através da fórmula  $y = (A-D) / (1 + (x/C)^B) + D$ . O intervalo de concentração utilizado para o teste foi de 1,6 a 2,8 ng/mL, com limite mínimo de detecção de 0,45 ng/mL, sendo determinado por três vezes o valor do desvio, para o padrão zero. O coeficiente de variação obtido para a precisão do ensaio descrito pelo fabricante foi de 8 a 10% para o intra-assay e 9,76 a 9,8% para o inter-assay.

## Fosfatase Alcalina Óssea (FAO)

A FAO foi dosada utilizando o Micro Vue Osteocalcin EIA (enzyme immuno assay) kit da QUIDEL® (USA, CA, San Diego), como indicador de atividade osteoblástica. O imunoensaio é um teste que utiliza um anticorpo monoclonal anti-FAO como captura e adsorvido à superfície dos alvéolos da microplaca de 96 orifícios. Este anticorpo monoclonal, adsorvido à placa, captura a FAO presente nas amostras de soro, padrão e controles, sendo possível determinar a atividade da FAO com o substrato p-Nitrofenil fosfato (pNPP). Para isto, um volume de 20 µL de soro, controles e padrão adicionado, constituído por 125µL de tampão de ensaio

foram acrescentados conjuntamente à placa. Após a retirada das amostras de soro, padrão e controles, a placa foi então lavada quatro vezes com tampão de lavagem e adicionado 150 µL do pNPP. O desenvolvimento de cor ocorreu num período de 30-35 minutos a temperatura ambiente, a reação bloqueada com NaOH 0,5N e a leitura realizada em leitor de Elisa TP Reader, Thermo Plate, em comprimento de onda de 405 nm. As concentrações de FAO nas amostras de soro foram obtidas através da fórmula  $y = A + Bx + Cx^2$ . O intervalo de concentração utilizado para o teste e montagem da curva padrão compreendeu concentrações entre 2 a 140 U/L. O limite mínimo de detecção para este ensaio fornecido pelo fabricante era de 0,7U/L, sendo determinado por três vezes o valor do desvio para o padrão zero. O coeficiente de variação obtido para a precisão do ensaio era de 3,9 a 5,8% para o intra-assay e 5,0 a 7,6% para o inter-assay.

A fosfatase alcalina específica do osso (BAP) foi medida quantitativamente no soro através do *Metra<sup>TM</sup>BAP EIA kit – Biosystems* como um indicador da atividade osteoblástica. O ensaio *Metra<sup>TM</sup>BAP* é um imunoenensaio quantitativo, num formato de tira de microtitulação que utiliza um anticorpo monoclonal anti - BAP revestido na tira para captar a BAP na amostra. A atividade enzimática da BAP captada é detectada com um substrato de p-Nitrofenil- fosfato (pNPP). A leitura foi realizada em microleitor de ELISA, no comprimento de onda de 405 nm. O ensaio foi realizado no Laboratório Experimental da Pediatria, Faculdade de Medicina de Botucatu- UNESP.

### **3.10 Dosagem de Estradiol Sérico**

Entre as usuárias de AOC, depois de seis meses de seu uso, foram obtidas amostras sanguíneas para dosagem de estradiol, que foi realizada através de imunoenensaio de micropartículas por quimiluminescência (CMIA), utilizando-se o Kit ARCHITECT® Estradiol (AbbottLaboratories, USA) que apresenta precisão ≤ 5pg/ml para concentrações do controle baixo (alvo a 45 pg/ml) e < 7% para concentrações no intervalo dos controles médio e alto (alvo a 190 e 600 pg/ml, respectivamente). As adolescentes pertencentes ao grupo controle não foram submetidas à dosagem do estradiol sérico, inferindo-se que, por serem adolescentes saudáveis, possuíam níveis de estradiol compatíveis com valores de referência, para seu grau maturacional (M4 e M5), valores esses já bem estabelecido pela literatura (Finkelstein, 1980).

### **3.11 Análise estatística**

Para a comparação entre as variáveis dos grupos de não usuárias e usuárias de ACO1 e ACO2, no momento basal, utilizou-se o teste de Kruskal Wallis e, para a comparação entre os grupos ACO1 e ACO2 o teste de Mann –Whitney, fixado o nível de significância em 5%.

Para estudar o efeito da idade sobre as variáveis nutricionais, densitométricas e sobre as concentrações dos marcadores ósseos provenientes de adolescentes não usuárias de contraceptivos (controles), realizou-se Análise de Regressão Linear..

Na comparação das variáveis antropométricas, densitométricas e das concentrações dos marcadores ósseos, obtidas entre as usuárias de EE 20µg/Desogestrel 150µg e EE 30µg/Drospirenona 3mg, no momento basal e 12 meses, foi utilizado o teste de Wilcoxon . Para todos os testes aceitou-se significância quando  $p < 0,05$ .

## 4.RESULTADOS

Na tabela 1, compararam-se as variáveis antropométricas, densitométricas ósseas e de composição corporal obtidas pela densitometria e as concentrações dos marcadores ósseos FAO e OC obtidos entre adolescentes que foram incluídas no grupo controle, momento inicial, frente às mesmas variáveis obtidas entre as adolescentes pertencentes ao grupo ACO1, no momento basal, e aquelas que compuseram o grupo ACO2, no momento de introdução ao estudo. Observa-se que as variáveis analisadas não apresentaram diferenças estatísticas, à exceção do percentual de gordura corporal, quando as adolescentes do grupo ACO2 diferiram das controles e do grupo ACO1 (Tabela 1).

Na sequência, pela análise da Regressão Linear Simples, evidenciou-se que, para estudar o efeito de todos os indicadores em função da idade, no grupo controle, para cada ano de idade cronológica a mais, encontrou-se um acréscimo na idade óssea de 1,04 anos, 3,42 kg de peso, 1,33 kg/m<sup>2</sup> de IMC e, de 0,1m na altura. Analisando as variáveis densitométricas nos diversos sítios esqueléticos estudados, pôde-se constatar que houve diferenças estatísticas significativas na densidade mineral óssea da coluna lombar (DMO lombar), corpo total (DMO corpo total) e corpo subtotal (DMO subtotal) com acréscimo de 0,06 g/cm<sup>2</sup> em cada ano a mais. No tocante ao conteúdo mineral ósseo, também se observou acréscimos no CMO da coluna lombar, CMO corpo total e CMO subtotal com incremento de 3,22g, 117,21g e 89,36g respectivamente,  $p < 0,001$ . Quanto à massa de gordura e massa magra, foram observados acréscimos de 1045,85g e de 2238,40 respectivamente (Tabela 2).

No tocante aos marcadores de formação óssea (FAO, OC) constatou-se uma redução na concentração da FAO, de - 5,19U/L, com um ano a mais de idade cronológica, estatisticamente significativa. Em relação à OC, não houve diferença estatística significativa (Tabela 2).

Continuando a análise dos resultados, observa-se na tabela 3 que, as medianas das variáveis antropométricas, densitométricas ósseas, de composição corporal obtidas pela densitometria e as concentrações dos marcadores ósseos FAO e OC obtidas no momento basal foram confrontadas às obtidas após 12 meses, provenientes das adolescentes que foram expostas às duas formulações de ACO, contendo EE 20 µg/Desogestre 150 µg e EE 30µg/Drospirenona 3mg. Observa-se que houve diferença estatística em relação à idade cronológica e a

idade óssea, na comparação momento inicial e final, com medianas de idade cronológica de 15,00 e 16,00 anos, após um ano de seguimento seja para o ACO1 e ACO2. O mesmo comportamento foi observado para a idade óssea com mediana de 16,00 e 18,00 anos para o ACO1 e mediana de 17,00 anos nos dois momentos analisados para o grupo ACO2. Quanto às demais variáveis analisadas, constatou-se diferenças significativas entre as variáveis antropométricas peso e IMC, nos dois grupos e, na estatura para o grupo ACO2 e, não se observou diferenças para o percentil do IMC e escore z de IMC.

Quanto as variáveis densitométricas ósseas obtidas nos diversos sítios analisados, na comparação momento basal e um ano após o uso dos ACOs preconizados, não se constatou diferenças significativas nas seguintes variáveis DMO lombar, CMO lombar, DMO corpo total, CMO corpo total, DMO subtotal e CMO subtotal para o grupo ACO2 e de todas as mesmas variáveis, a exceção do CMO de corpo total para o grupo ACO1, com  $p=0,001$ . Quanto à massa de gordura, e percentual de gordura corporal, constatou-se diferenças estatisticamente significativas entre o momento basal e 12 meses, para ambas composições de contraceptivos. O mesmo efeito não foi evidenciado em relação à massa magra avaliada no grupo ACO2 (Tabela 3).

No tocante às concentrações dos biomarcadores de formação óssea (FAO, OC), verificou-se uma redução nas medianas da FAO de 53,92U/L para 41,48U/L, na comparação momento basal frente a um ano de uso do ACO1, contendo EE 20 $\mu$ g EE/Desogestrel 150  $\mu$ g, com diferença estatisticamente significativa,  $p=0,080$  e de 43,10U/L para 27,14U/L quando foi utilizado EE 30  $\mu$ g/Drospirenona 3 mg (ACO2),  $p<0,001$ . Reduções nas concentrações de osteocalcina também puderam ser observadas, de 8,00ng/mL no momento basal para 4,69ng/mL, 12 meses após nas adolescentes que compunham o grupo ACO1,  $p=0,002$ , e de 10,43ng/mL para 1,47ng/mL, no grupo ACO2, com diferenças significantes, com  $p<0,001$  (Tabela 3).

**Tabela 1. Comparação entre variáveis de adolescentes pertencentes ao grupo controle e grupo de usuárias de contraceptivos contendo 20µgEE/150µg Desogestrel (ACO1) e 30EE µg/3mg Drospirenona (ACO2) no momento basal.**

	Controle (n=70)			20µgEE/150µgDesogestrel ACO1 (n=36)			30µgEE/3mgDrospirenona ACO2 (n=61)			Pa	p b
	Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max		
Idade (anos)	16,00	12,00	19,40	15,00	11,00	20,00	15,00	12,00	18,00	0,663	0,182
Idade óssea (anos)	17,00	14,00	19,00	16,00	14,00	18,00	17,00	14,00	21,00	0,245	0,402
Peso (kg)	52,55	41,00	69,90	54,00	39,00	73,40	54,00	38,50	69,00	0,855	0,971
Estatura (m)	1,60	1,49	1,72	1,59	1,49	1,67	1,59	1,39	1,71	0,862	0,212
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) c	20,30	16,44	26,78	21,35	17,1	26,78	21,50	15,82	26,86	0,512	0,052
Escore z IMC c	-0,02	-1,40	1,15	0,27	-1,39	1,27	0,24	-1,73	1,24	0,840	0,113
Percentil IMC c	48,89	8,07	87,46	58,72	8,21	89,78	59,89	8,18	89,22	0,692	0,066
BMD Lombar (g/cm <sup>2</sup> )	0,951	0,724	1,174	0,963	0,770	1,169	0,955	0,744	1,242	0,987	0,874
BMC Lombar (g)	51,00	29,94	76,64	49,82	38,54	72,99	50,19	34,61	79,39	0,579	0,854
Escore z Lombar	-0,300	-1,800	1,630	0	-1,400	1,900	0	-1,800	2,400	0,774	0,637
BMD Corpo Total (g/cm <sup>2</sup> )	1,017	0,859	1,205	0,995	0,845	1,130	1,017	0,884	1,240	0,152	0,213
BMC Corpo Total (g)	1886,75	1260,69	2473,26	1848,59	1291,25	2130,32	1804,57	1377,30	2719,86	0,620	0,743
Escore z Corpo Total				-0,900	-1,900	1,800	-0,500	-1,900	1,800	0,219	0,219
BMD Subtotal (g/cm <sup>2</sup> )	0,886	0,753	1,043	0,874	0,726	0,950	0,888	0,790	1,161	0,077	0,185
BMC Subtotal (g)	1445,81	923,07	1901,61	1443,84	945,38	1609,56	1395,64	1032,23	2254,86	0,541	0,782
Massa de Gordura (g)	15315,20	9539,10	29019,90	16111,70	7740,60	25324,60	17593,45	10151,70	29019,90	0,037	0,069
Massa Magra (g)	35636,00	26173,60	48669,10	37105,10	29294,40	48669,10	35325,60	25993,70	51819,50	0,209	0,358
% de Gordura	29,400	20,400	41,800	29,100	20,000	38,500	32,550	19,600	41,300	0,002	0,008
FAO (U/L)	59,92	15,41	87,90	44,86	3,94	132,766	39,885	19,3124	103,404	0,093	0,225
OC (ng/mL)	6,68	1,12	30,11	8,0015	1,711	25,998	10,427	0,269	28,146	0,295	0,301

Nota "a" Teste de Mann-Whitney comparação entre ACO1 e ACO2

"b" Teste de Kruskal Wallis comparação entre os 3 grupos

"c" ANOVA (valores apresentados em media).



**Tabela 2. Estudo de Regressão Linear para estudar o efeito sobre as variáveis nutricionais, densitométricas e dos marcadores ósseos de adolescentes não usuárias de contraceptivos (grupo controle) em função da idade.**

	Controles			IC95%	
	$\beta$	<i>p</i>			
Idade óssea (anos)	1,04	<0,001	1,02	1,06	
Peso (kg)	3,42	<0,001	3,30	3,54	
Estatura (m)	0,10	<0,001	0,10	0,10	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	1,33	<0,001	1,29	1,37	
Escore z IMC	0,01	0,342	-0,01	0,02	
Percentil IMC	3,31	<0,001	2,93	3,68	
BMD Lombar (g/cm <sup>2</sup> )	0,060	<0,001	0,058	0,06	
BMC Lombar (g)	3,223	<0,001	3,086	3,36	
Escore z Lombar	-0,012	0,105	-0,026	0,00	
BMD Corpo Total (g/cm <sup>2</sup> )	0,064	<0,001	0,062	0,07	
BMC Corpo Total (g)	117,21	<0,001	113,150	121,27	
BMD Subtotal (g/cm <sup>2</sup> )	0,056	<0,001	0,055	0,06	
BMC Subtotal (g)	89,36	<0,001	86,041	92,68	
Massa de Gordura (g)	1045,85	<0,001	974,54	1117,16	
Massa Magra (g)	2238,40	<0,001	2150,19	2326,62	
% de Gordura	1,910	<0,001	1,82	2,00	
FAO (U/L)	-5,19	<0,001	-7,24	-3,14	
OC (ng/mL)	-0,30	0,540	-1,23	0,65	

**Tabela 3. Comparação entre as variáveis antropométricas, densitométricas e dos marcadores ósseos de adolescentes pertencentes aos grupos ACO1 e ACO2 no momento basal e 12 meses.**

ACO	ACO1						ACO2									
	Momento Basal (n=36)			12meses (n=36)			Z	p	Momento Basal (n=61)			12meses (n=61)			Z	p
	Med	Min	Max	Med	Min	Max			Med	Min	Max	Med	Min	Max		
Idade (anos)	15,00	11,00	20,00	16,00	12,00	19,00	-4,4	0,000	15,00	12,00	18,00	16,00	13,00	21,00	-5,6	0,000
Idade óssea (anos)	16,00	14,00	18,00	18,00	15,00	18,00	-4,1	0,000	17,00	14,00	18,00	17,00	15,00	18,00	-4,9	0,000
Peso (kg)	54,00	39,00	73,40	54,10	39,80	90,00	-3,2	0,001	54,00	38,50	69,00	54,45	39,50	73,60	-2,9	0,004
Estatura (m)	1,59	1,49	1,67	1,58	1,49	1,68	-1,3	0,179	1,59	1,39	1,71	1,59	1,39	1,73	-3,4	0,001
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) a	21,35	17,10	26,78	21,11	17,00	31,89	-2,9	0,037	21,50	15,82	26,86	21,87	17,91	26,78	-2,5	0,450
Escore z (IMC) a	0,27	-1,39	1,27	0,52	-1,97	1,77	-1,2	0,175	0,24	-1,73	1,24	0,29	-1,58	1,26	-0,7	0,759
Percentil IMC a	58,72	8,21	89,78	66,71	2,42	96,20	-1,0	0,194	59,89	8,18	89,22	60,44	15,00	89,60	-0,9	0,908
BMD lombar (g/cm <sup>2</sup> )	0,968	0,771	1,169	0,983	0,798	1,091	-1,7	0,088	0,955	0,744	1,242	0,926	0,672	1,242	-1,6	0,116
BMC lombar (g)	49,82	38,54	72,99	50,88	34,07	65,49	-1,4	0,166	50,19	34,61	79,39	50,98	33,90	77,35	-0,8	0,437
Escore z lombar	0,000	-1,400	1,900	-0,200	-1,300	2,000	-1,7	0,081	0,000	-1,800	2,400	-0,250	-3,100	2,100	-2,8	0,005
BMD corpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1,000	0,845	1,130	1,000	0,864	1,144	-1,9	0,059	1,017	0,884	1,240	1,031	0,907	1,242	-1,6	0,102
BMC corpo total (g)	1848,59	1291,25	2130,32	1829,99	1360,21	2153,10	-3,2	0,001	1804,57	1377,30	2719,86	1769,70	1512,99	2809,39	-0,3	0,751
Escore z corpo total	-0,900	-1,900	1,800	-1,000	-2,200	0,800	-2,7	0,007	-0,500	-1,900	1,800	-0,700	-2,200	1,700	-2,3	0,021
BMD subtotal (g/cm <sup>2</sup> )	0,874	0,726	0,950	0,874	0,730	0,938	-0,3	0,765	0,888	0,790	1,161	0,907	0,788	1,165	-1,9	0,055
BMC subtotal (g)	1443,84	945,38	1609,56	1397,775	995,05	1602,94	-1,5	0,126	1395,64	1032,23	2254,86	1378,83	1107,32	2360,76	-1,2	0,224
Massa de Gordura (g)	16111,70	7740,60	25324,60	17270,35	8940,40	34651,30	-3,3	0,001	17593,45	10151,70	29019,90	18817,90	11719,50	28551,00	-4,1	0,000
Massa Magra (g)	37105,10	29294,40	48669,10	36420,85	28945,30	53000,10	-2,5	0,012	35325,60	25993,70	51819,50	34553,00	26597,90	44855,40	-0,2	0,873
% de gordura	29,100	20,000	38,500	31,800	20,300	39,600	-3,2	0,001	32,550	19,600	41,300	33,800	23,400	41,600	-4,0	0,000
FAO (U/L)	53,92	3,94	132,77	41,48	17,44	69,64	-2,1	0,080	43,10	19,31	103,40	27,14	11,70	51,70	-4,0	0,001
OC (ng/mL)	8,00	1,71	26,00	4,69	1,93	17,92	-3,1	0,002	10,43	0,27	28,15	1,47	0,00	19,83	-4,1	0,000

nota: ACO1: adolescentes que receberam contraceptivo oral contendo 20 µg EE/150 g desogestrel; ACO2: adolescentes que receberam contraceptivo oral contendo 30 µg EE/3mg drospirenona.

Teste Wilcoxon para comparação entre momentos entre ACO1 e ACO2. "a" Teste Pareado (valores em media)

## 5. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que adolescentes saudáveis, na faixa etária compreendida entre 12 anos completos e 20 anos incompletos, não usuárias de contraceptivo hormonal oral, apresentaram um incremento de massa óssea significativo quando analisado pela densitometria óssea nos vários sítios esqueléticos propostos. Em relação aos marcadores ósseos de formação, observou-se um aumento em suas concentrações, coincidente com o momento etário do pico de velocidade de crescimento (PHV) para a população de meninas brasileiras, confirmando um paralelismo entre esses eventos. Na sequência, observou-se um decréscimo nas concentrações dos biomarcadores, acompanhando a desaceleração prevista quanto à velocidade de crescimento em estatura (Moretto et al., 2011; Fortes et al., 2014).

É possível destacar que os três grupos estudados denominados grupo controle, grupo ACO1 e grupo ACO2, no momento basal foram muito homogêneos entre si no tocante às características antropométricas, densitométricas e nas avaliações dos marcadores ósseos de formação. Entretanto, quando aquelas usuárias das duas formulações de ACO foram comparadas às adolescentes que compunham o grupo controle, no momento 12 meses, as pertencentes aos grupos ACO tiveram um incremento ósseo aquém do estimado naquelas consideradas controles, evidenciando um efeito negativo de ambas formulações sobre a massa óssea de adolescentes. Deve-se ressaltar que esse período da vida que compreende a segunda década é considerado único e primordial para a saúde óssea futura, uma vez que 92% da massa óssea total é adquirida até por volta dos 18 anos de idade e 99%, até os 26 anos de idade (Rabinovich, 2004; Harel et al., 2007; Lattakova et al., 2009).

Dados da literatura demonstraram que mulheres que usavam ACO não apresentavam as altas concentrações do estrogênio endógeno, evidenciadas no meio do ciclo, característica dos ciclos espontâneos (Lattakova et al., 2009), assim como as oscilações observadas durante as várias fases do ciclo menstrual, fase folicular, fase ovulatória e fase do corpo lúteo. A busca em reduzir os efeitos colaterais e, principalmente, as complicações cardiovasculares resultantes do uso de ACO constatadas nas últimas décadas levou a redução gradativa das

concentrações de estrogênio nas formulações dos anticoncepcionais, o que possivelmente resultou em efeito deletério sobre a DMO. Em virtude de uma concentração menor dos esteroides sexuais na circulação, pôde-se constatar um menor incremento do pico de massa óssea a ser adquirido na adolescência (Reed et al., 2003), ainda que outros órgãos e sistemas fossem protegidos por essa redução nas concentrações do etinilestradiol presente nos contraceptivos.

Além dos efeitos relacionados ao estrogênio, deve-se levar em consideração o impacto dos progestagênios sobre a massa óssea, com diferentes mecanismos que requerem consideração. Primeiro, divulga-se que efeitos óbvios e bem estabelecidos confirmam que doses altas de progesterona atuam sobre o eixo hipotalâmico-hipófise-gonadal, resultando em hipoestrogenismo, remodelação óssea acelerada e rápida perda de massa óssea (Prince et al., 2007; Herrmann e Seibel, 2010). Outra possibilidade difundida é que existem evidências de que a progesterona apresentaria efeito estimulatório, através de receptores de progesterona e de receptores androgênicos (Wiren et al., 2006; Takai et al., 2007). Os receptores de progesterona e androgênio (AR) são expressos em osteoblastos e osteoclastos e a ativação desses dois receptores tem-se revelado por um aumento da massa óssea, por elevarem a atividade osteoblástica e reduzirem a reabsorção óssea resultante da estimulação osteoclástica (Wiren et al., 2005; Wiren et al., 2006). Outra possibilidade sugerida divulga que os progestagênios, em particular o Acetato de Medroxiprogesterona, se unem ao receptor de glicocorticoide (GR), o que poderia resultar em inibição da atividade osteoblástica. Enquanto as concentrações fisiológicas de glicocorticoides são essenciais para proliferação e diferenciação dos osteoblastos, os níveis supra-fisiológicos de glicocorticoides são conhecidos por induzirem a perda óssea, sobretudo através da inibição da atividade osteoblástica (Alesci et al., 2005; Mazziotti et al., 2006). Considerando essas interações complexas, sugere-se que o encadeamento de efeitos dos progestagênios sobre as células ósseas seja comumente determinado pelo grau de interação entre o hipoestrogenismo induzido, bem como pela ação estimulatória ou inibitória resultante de sua ação sobre os vários receptores hormonais. Deve-se destacar que a dose e a formulação dos progestagênios utilizados poderiam ser responsabilizados pelos efeitos ósseos observados.

Quimicamente, os progestagênios podem ser classificados em duas famílias: os derivados de progesterona e os derivados de 19 Nortestosterona (Herrmann e Seibel, 2010). A maioria dos progestagênios contidos nos

---

contraceptivos hormonais modernos, é derivada da 19 Nortestosterona, embora a composição individual possa exibir diferenças significantes em potencial e na capacidade de ligar-se aos receptores de hormônios esteroides, relatados como receptores androgênicos (AR), receptores de glicocorticoides (GR) ou receptores de mineralocorticoides (MR).

Muitos progestagênios comprometidos com os receptores androgênicos, como por exemplo, a Drospirenona e o Desogestrel, que estão presentes na composição dos ACO do presente estudo, levam a ativação de receptores androgênicos por uma inibição competitiva, podendo prevenir a ação androgênica endógena. Esse mecanismo de atuação resulta em efeitos antiandrogênicos, de grande importância sobre o metabolismo ósseo, uma vez que a testosterona exerce um papel fundamental na aquisição de massa óssea. Em decorrência da identificação de poucos estudos na literatura sobre a influência dos progestagênios presentes nas formulações de ACOs, resulta a complexidade em distinguir quais efeitos seriam advindos da progesterona ou resultantes dos níveis reduzidos de estrogênio sobre o metabolismo ósseo. No presente estudo, pode-se destacar, como resultado final, um menor incremento de massa óssea entre as usuárias de ACO, após um ano de seguimento.

Estudos também evidenciaram uma forte correlação entre o estrogênio endógeno e os marcadores de formação e reabsorção óssea, com concentrações elevadas dos biomarcadores no período inicial da puberdade, com valores de pico coincidentes com o pico da velocidade de crescimento e declínio significativo das concentrações na puberdade tardia, sendo essas próximas às verificadas entre adultos (Van Coeverden et al., 2002; Fortes et al., 2014).

É importante ressaltar que os marcadores do metabolismo ósseo e a massa óssea se relacionam às mudanças pubertárias evidenciadas durante o crescimento observado na segunda década de vida. Durante o período de aceleração do crescimento, constatado no estágio 2 de Tanner, no sexo feminino, ocorre aumento dos marcadores de remodelação óssea. A massa óssea também apresenta incremento, ocorrendo pico nas concentrações dos marcadores coincidente com o pico da velocidade de crescimento, observado no estágio 3 de Tanner. Na sequência, no momento de desaceleração do crescimento, os marcadores do metabolismo ósseo declinam, enquanto a massa óssea continua sendo incrementada, provavelmente, devido aos níveis aumentados dos esteroides

sexuais e do IGF-1 (*insuline-like growth factor-1*), fenômeno este que foi constatado por Tobiume e colaboradores, que mensuraram níveis séricos máximos de FAO durante a média puberdade (estágio 3 no sexo feminino), e declínio em puberdade tardia, com posterior manutenção dos seus níveis até a adultícia (Van Coeverden et al., 2002; Fortes et al., 2014).

Diante do que foi exposto e sabendo que todas as adolescentes que compuseram a amostra do presente estudo encontravam-se em puberdade tardia, pode-se inferir que a redução nas concentrações dos marcadores de formação óssea, OC e FAO, foram decorrentes da influência do uso de ACO, uma vez que a média do estradiol circulante obtido para tais adolescentes foi de 54 pg/mL, concentrações menores quando comparadas às de uma adolescente não usuária de contraceptivo hormonal, cujas concentrações reportadas na literatura são de 87pg/mL na fase folicular, podendo atingir valores de 150 a 350pg/mL, durante o período ovulatório (Lattakova et al., 2009). Assim, os resultados evidenciados, quanto aos marcadores ósseos, nesse estudo, não parecem ser decorrentes apenas da influência da idade, mas resultantes do hipoestrogenismo a que as usuárias de ambos ACO foram submetidas, mesmo que frente às diferenças das apresentações de etinilestradiol presente nas duas formulações.

Quando comparamos os resultados do presente estudo com os dados advindos da literatura, pudemos confirmar que o uso do ACO exerce efeito negativo sobre a massa óssea de adolescentes, visto que as pacientes consideradas controles, ou seja, não usuárias de ACO tiveram um aumento na DMO e no CMO de todos os sítios esqueléticos analisados, com resultados que confirmam aqueles apresentados por Polatti e colaboradores, quando controles aumentaram a DMO em 7,8% (Polatti et al., 1995; Ziglar, 2012). Em contrapartida, em nosso estudo, quando a análise do incremento da massa óssea, avaliada pela densitometria, das usuárias de anticoncepcional hormonal oral, após 12 meses, foi realizada frente aos valores basais, constatou-se que as mesmas incrementaram de forma muito discreta sua massa óssea, porém sem significância estatística.

Cromer e colaboradores, em seu estudo, analisaram a evolução da massa óssea de 370 adolescentes na faixa etária de 12 a 18 anos, por um período de 12 meses, agrupando-as em usuárias e não usuárias de contraceptivo hormonal e concluíram que as usuárias de Acetato de Medroxiprogesterona apresentaram, em média, redução de 1,4% na DMO na coluna lombar ( $p < 0,001$ ); as que usaram

ACO contendo EE 20µg e 100µg de Levonorgestrel ganharam 2,3 % na DMO da coluna lombar. Entretanto, o grupo controle teve acréscimo de 3,8% na coluna lombar. Ressalta-se que, tanto no estudo de Cromer e colaboradores como no presente estudo, as usuárias de ACO tiveram acréscimo em suas DMO, mas esse incremento foi menor que o observado no grupo de não usuárias de anticoncepcional. Diante desses resultados, pode-se supor que os modestos ganhos nas DMO das adolescentes que fizeram uso de ACO de baixa dosagem, permitem algum incremento na massa óssea, mas não a mineralização óssea máxima possível e necessária, que atuaria como um "banco de reserva" para os anos da adultícia e velhice (Polatti et al., 1995; Cromer et al., 2004; Cromer et al., 2008; Biason et al., 2015).

Quando avaliamos os marcadores de formação óssea e confrontamos com os resultados presentes na literatura, pudemos verificar que no estudo de Paoletti e pesquisadores, no qual analisaram 28 mulheres entre 20 e 30 anos de idade que fizeram uso de ACO contendo EE 30µg/Drospirenona 3mg e as compararam com não usuárias na mesma faixa etária, observaram que, após seis meses de uso, as concentrações séricas dos marcadores de formação óssea analisados, FAO e OC, haviam diminuído em 20 a 30% em usuárias de ACO, mas permaneceram inalterados entre as controles (Paoletti et al., 2004).

No presente estudo também foi constatada redução das concentrações séricas dos marcadores de formação óssea nos dois grupos avaliados após 12 meses de uso de ACO, com reduções em 20 a 30 % nas concentrações da FAO e 40 a 86% nas concentrações da OC. Entre as adolescentes do grupo controle, as concentrações sofreram decréscimo significativo, quando analisada a FAO. No caso da OC, tal constatação não foi evidenciada.

Estudo realizado por Lattakova e colaboradores, no qual examinaram os efeitos de diferentes formulações de ACO contendo EE 30µg e EE 15µg sobre marcadores de remodelação óssea, incluindo a Osteocalcina e o CTX (telopetídeo carboxiterminal) em adolescentes, os autores concluíram que os níveis de OC e CTX diminuíram após um ano de uso das duas dosagens de contraceptivos, em ambos os grupos, mas a diferença entre os grupos não foi estatisticamente significativa após ajustes dos fatores confundidores, como idade, IMC, idade da menarca, ingestão de cálcio e atividade física (Lattakova et al., 2009). Em nosso estudo, não houve necessidade de ajustes para tais fatores confundidores, uma vez

que as adolescentes de todos os grupo apresentavam homogeneidade na comparação de suas variáveis e foram selecionadas segundo critérios rígidos de inclusão e exclusão no estudo. Assim, a constatação na redução dos biomarcadores de formação pode ser imputada ao efeito negativo resultante da utilização do anticoncepcionais utilizados, confirmada pela presença de diferenças estatisticamente significantes observadas na comparação da FAO e OC, no seguimento das adolescentes por período de um ano.



---

## 6. CONCLUSÃO

O uso de duas formulações de contraceptivos hormonais orais de baixa dosagem, após um ano de seguimento, se associa a efeitos negativos sobre a massa óssea, com incrementos na densidade e conteúdo mineral ósseos aquém daquele evidenciado para essa faixa etária, quando os resultados são confrontados com os advindos de adolescentes não usuárias de contraceptivos.

Os níveis de estradiol evidenciados entre as usuárias das formulações de contraceptivos hormonais de baixa dosagem são inferiores aos níveis de estrogênio endógeno circulantes avaliados em adolescentes saudáveis não usuárias de anticoncepcionais, não sendo possivelmente suficientes para sustentar uma aquisição óssea máxima, que deveria ocorrer nessa fase da vida.

Há evidências de que o uso desses contraceptivos, quando introduzidos durante a segunda década de vida, se relaciona a níveis consistentemente menores dos marcadores de formação óssea OC e FAO, confirmando o efeito negativo sobre osso já demonstrado pela realização da densitometria mineral óssea.

## 7. CONSIDERAÇÕES

Diante dos resultados apresentados nesse estudo, algumas considerações podem ser realizadas, para que se façam reflexões sobre sexualidade e saúde reprodutiva de nossas adolescentes, bem como na busca de soluções e no delineamento e continuidade de novas pesquisas relacionadas ao tema proposto.

Diante da necessidade inquestionável do uso de métodos contraceptivos por adolescentes e, sendo os anticoncepcionais orais de baixa dosagem um dos métodos mais utilizados, os resultados relativos ao comprometimento de aquisição da massa óssea em adolescentes devem ser amplamente divulgados, para que se avalie o risco potencial de osteopenia/osteoporose em idades mais avançadas. Deve-se no entanto, buscar medidas possíveis de serem implementadas para contornar esse dilema.

Cada aumento de 10% da massa óssea na adolescência diminui o risco de fraturas em 50%, e teoricamente atrasaria o aparecimento da osteoporose em 13 anos (WHO,1994).

Embora alguns investigadores sugiram um ligeiro aumento do risco de fraturas em alguns sítios, este fato não foi constatado entre as adolescentes que compuseram nossa amostra, pelo tempo de seguimento proposto. Sugerimos que novos estudos sejam realizados por um período observacional maior, para melhor avaliarmos a influência dos ACOs sobre a massa óssea e, também, sobre os marcadores de formação e reabsorção óssea nessa faixa etária.

Cabe a nós, profissionais da saúde que se empenham pelo bem estar e qualidade de vida dos adolescentes, orientá-los quanto a medidas que possam resultar em benefício à sua saúde óssea atual e futura, como a prática de atividade física, alimentação saudável e adequada para cada estágio de seu desenvolvimento, suprimindo as necessidades energético-proteicas e minerais, bem como orientando quanto a ingestão adequada de cálcio, exposição solar, ingestão ou suplementação de vitamina D, medidas essenciais para o bom desenvolvimento esquelético e equilíbrio do metabolismo ósseo.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albin AK, Niklasson A, Westgren U, Norjavaara E. Estradiol and pubertal growth in girls. *Horm Res Paediatr*. 2012;78:218-25.

Alesci S, De Martino MU, Ilias I, Gold PW, Chrousos GP. Glucocorticoid-induced osteoporosis: from basic mechanisms to clinical aspects. *Neuroimmunomodulation*. 2005;12(1):1-19.

Bailey K, Combs MC, Rogers LJ, Stanley KL. Could this simple nursing intervention help prevent osteoporosis. *AWHONN Lifelines*. 2000;4(2):41-4.

Beksinska ME, Kleisnschmidt I, Smit JA, Farley TM. Bone mineral density in adolescents using norethisteroneenanthate, depot-medroxyprogesterone acetate or combined oral contraceptives for contraception. *Contraception*. 2007;75:438-43.

Beksinska ME, Kleisnschmidt I, Smit JA, Farley TM. Bone mineral density cohort of adolescents during use of norethisteroneenanthate, depot-medroxyprogesterone acetate or combined oral contraceptives and after discontinuation of norethisteroneenanthate. *Contraception*. 2009;79:345-9.

Biason TP, Goldberg TBL, Kurokawa CS, Moretto MR, Teixeira AS, Nunes HRC. Low-dose combined oral contraceptive use is associated with lower bone mineral content variation in adolescents over a 1-year period. *BMC EndocrDisord*. 2015;15:15.

Bord S, Horner A, Beavan S, Compston J. Estrogen receptors alpha and beta are differentially expressed in developing human bone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(5):2309-14.

Cremers S1, Garnerio P. Biochemical markers of bone turnover in the clinical development of drugs for osteoporosis and metastatic bone disease: potential uses and pitfalls. *Drugs*. 2006;66(16):2031-58.

Cromer BA, Stager M, Bonny A, Lazebnik R, Rome E, Ziegler J, et al. Depot Medroxyprogesterone acetate, oral contraceptives and bone mineral density in a cohort of adolescent girls. *J Adolesc Health*. 2004;35:434-41.

Cromer BA, Lazebnik R, Rome E, Stager M, Bonny A, Ziegler J, et al. Double-blind randomized controlled trial of estrogen supplementation in adolescent girls who receive depot medroxy progesterone acetate for contraception. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192:42-7.

Committee on Nutrition, American Academy of Pediatrics. Calcium requirement so infants, children and adolescents. *Pediatrics.* 1999;104:1152-7.

Dasher LG, Newton CD, Lenchik L. Dual X-ray absorptiometry in today's clinical practice. *Radiol Clin North Am.* 2010;48(3):541-60.

DRI. 2011. [http://www.nal.usda.gov/fnic/DRI/DRI\\_Calcium\\_Vitamin\\_D/FullReport.pdf](http://www.nal.usda.gov/fnic/DRI/DRI_Calcium_Vitamin_D/FullReport.pdf)

Eapen E, Grey V, Don-Wauchope A, Atkinson SA. Bone health in childhood: usefulness of biochemical biomarkers. *E JIFCC.* 2008;19(2):1-14.

Eisentein E, Coelho K. Crescimento e desenvolvimento. In: Ministério da Saúde (BR). *Saúde do adolescente: competências e habilidades.* Brasília; 2008.

Emons J, Chagin AS, Malmlöf T, Lekman M, Tivesten A, Ohlsson C, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in the growth plate is stimulated by estradiol and increases during pubertal development. *J Endocrinol.* 2010; 205(1):61-8.

Ferreira MLSM, Galvão MTG, Costa ES. Sexualidade da adolescente: anticoncepção. *Rev Bras Med.* 2000;57:8-15.

Finkelstein JW. The endocrinology of adolescence. *Pediatr Clin North Am.* 1980; 27(1):53-69.

Fortes CMT, Goldberg TB, Kurokawa CS, Silva CC, Moretto MR, Biason TP, et al. Relationship between chronological and bone ages and pubertal stage of breasts with bone biomarkers and bone mineral density in adolescents. *J. Pediatr (Rio J).* 2014;90:624-31.

Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
<http://brasilemsintese.ibge.gov.br/populacao/taxas-de-fecundidade-total.html>

---

Gai L, Jia Y, Zhang M, Gai P, Wang S, Shi H, et al. Effect of two kinds of different combined oral contraceptives use on bone mineral density in adolescent women. *Contraception*. 2012;86:332-6.

Giacaglia LR, Martin RM, Silva RAL. Terapia nutricional em doenças ósseas. In: Silva SMC, Mura JDP. *Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia*. 2a ed. São Paulo: Roca; 2011. p.813-28.

Goldberg TBL, Silva CC, Hong SN, Kurokawa CS, Capela RC, Dalmas JC. Bone biomarkers and bone mineral density in healthy male adolescents: impact of biological maturation. *Acta Paediatr*. 2009; 98Suppl.460:146.

Goldberg TBL, Fortes C, Kurokawa C, Silva CC, Moretto M, Nunes H. 428 relationship between bone age and pubertal breast stage to bone biomarkers and bone mineral density in healthy Brazilian female adolescents. *Arch Dis Childhood*. 2012;97:A126.

Gordon CM, Bachrach LK, Carpenter TO, Crabtree N, El-Hajj Fuleihan G, Kutilek S, et al. Dual energy X-ray absorptiometry interpretation and reporting in children and adolescents: the 2007 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom*. 2008; 11(1):43-58.

Gracia-Marco L, Vicente-Rodríguez G, Valtueña J, Rey-López JP, Díaz Martínez AE, Mesana MI, Widhalm K, Ruiz JR, González-Gross M, Castillo MJ, Moreno LA; HELENA Study Group. Bone mass and bone metabolism markers during adolescence: The HELENA Study. *Horm Res Paediatr*. 2010;74(5):339-50. doi: 10.1159/000314965. Epub 2010 Jul 21.

Greulich W, Pyle S. *Radiographic atlas of skeletal development of hand and wrist*. 2a ed. Stanford: Stanford University Press; 1959.

Grumbach MM. Estrogen, bone, growth and sex: a sea change in conventional wisdom. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2000;13Suppl 6:1439-55.

Harel ZI, Gold M, Cromer B, Bruner A, Stager M, Bachrach L, Wolter K, Reid C, Hertweck P, Nelson A, Nelson D, Coupey S, Johnson C, Burkman R, Bone H. Bone mineral density in postmenarcheal adolescent girls in the United States: associated biopsychosocial variables and bone turnover markers. [J Adolesc Health](#). 2007 Jan;40(1):44-53. Epub 2006 Oct 27.

---

Hermann M, Seibel MJ. The effects of hormonal contraceptives on bone turnover markers and bone health. *ClinEndocrinol*. 2010;72:571-83.

Institute of Medicine (US). Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, et al., editors. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D [Internet]. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011 [citado 20 Ago 2012]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/>

Kuczmarski RJ, Ogden CL, Guo SS, Grummer-Strawn LM, Flegal KM, Mei Z, et al. 2000 CDC growth charts for the United States: methods and development. *Vital Health Stat*. 2002;(246):1-190.

Kusec V, Viridi AS, Prince R, Triffitt JT. Localization of estrogen receptor-alpha in human and rabbit skeletal tissues. *J ClinEndocrinolMetab*. 1998;83(7):2421-8.

Lash RW, Nicholson JM, Velez L, Van Harrison R, McCort J. Diagnosis and management of osteoporosis. *Prim Care*. 2009;36(1):181-98.

Lattakova M, Borovsky M, Payer J, Killinger Z. Oral contraception usage in relation to bone mineral density and bone turnover in adolescent girls. *Eur J ContraceptReprod Health Care*. 2009;14:207-14.

Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *ArchDisChild*. 1969;44:291-303.

Mazziotti G, Angeli A, Bilezikian JP, Canalis E, Giustina A. Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update. *Trends Endocrinol Metab*. 2006 May-Jun;17(4):144-9.

Moretto de Oliveira MR, Cristiane da Silva C, Kurokawa CS, Teixeira Fortes CM, Campos Capela R, Santos Teixeira A, et al. Bone mineral density in healthy female adolescents according to age, bone age and pubertal breast stage. *Open Orthop J*. 2011;5:324-30.

Mosca LN, Goldberg TB, da Silva VN, Kurokawa CS, Rizzo AC, da Silva CC, Dos Santos Teixeira A, Corrente JE. The impact of excess body fat on bone remodeling in adolescents. *Osteoporos Int*. **2016** Nov 30. [Epub ahead of print]

---

Neinstein LS. Adolescent health care: a practical guide. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.

Oerter R, Dreher e Jugendalter. In: Oerter R, Montada L. Entwicklungs psychologie. Weinheim: Beltz; 2002. p. 258-318.

Paoletti AM, Orru M, Lello S, Floris S, Ranuzzi F, Etzi R, et al. Short-term variations in bone remodeling markers of an oral contraception formulation containing 3 mg of drospirenone plus 30 microg of ethinylestradiol: observational study in young postadolescent women. *Contraception*. 2004;70:293-8.

Pikkarainen E, Lehtonen-Veromaa M, Möttönen T, Kautiainen H, Viikari J. Estrogen-progestin contraceptive use during adolescence prevents bone mass acquisition: a 4-year follow-up study. *Contraception*. 2008;78:226-31.

Polatti F, Perotti F, Filippa N, Gallina D, Nappi RE. Bone mass and long-term monophasic oral contraceptive treatment in young women. *Contraception*. 1995;51:221-4.

Rabinovich CE. Osteoporosis: a pediatric perspective. *Arthritis Rheum*. 2004 Apr;50(4):1023-5.

Rauchenzauner M, Schmid A, Heinz-Erian P, Kapelari K, Falkensammer G, Griesmacher A, et al. Sex- and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):443-9.

Reed SD, Scholes D, LaCroix AZ. Longitudinal changes in bone density in relation to oral contraceptive use. *Contraception*. 2003; 68, 177-182.

Riggs BL, Khosla S, Melton LJ. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev*. 2002;23:279-302.

Rizzoli R, Bianchi ML, Garabédian M, McKay HA, Moreno LA. Maximizing bone mineral mass gain during growth for the prevention of fractures in the adolescents and the elderly. *Bone*. 2010;46:294-305.

Saito MI. Nutrição: necessidades e desvios. In: Souza RP, Maakaroum MF. Manual de adolescência. São Paulo: Sociedade Brasileira de Pediatria; 1989. p.35-41.

---

Saito MI. Avaliação nutricional na adolescência: a escolha do referencial. *J Pediatr (Rio J)*. 1993;69(3):165-75.

Saraiva GL, Lazaretti-Castro M. Marcadores bioquímicos da remodelação óssea na prática clínica. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2002;46:72-8.

Seeman E. From density to structure: growing up and growing old on the surfaces of bone. *J Bone Miner Res*. 1997;4:509.

Seibel MJ. Bone turnover in nutrition-related disorders Markus. *Wien Med Wochenschr*. 2007;24:582-8.

Silva CC, Goldberg TBL, Teixeira AS, Dalmas JCS. Mineralização óssea em adolescentes do sexo masculino: anos críticos para a aquisição da massa óssea. *J Pediatr (Rio J)*. 2004;80(6):461-7.

Silva CC, Goldberg TBL, Teixeira AS, Dalmas JC. Bone mineralization in Brazilian adolescents: the years of maximum bone mass incorporation. *Arch Latino-Am Nutr*. 2007;57(2):118-24.

Silva CC, Goldberg TBL, Nga HS, Kurokawa CS, Capela RC, Teixeira AS, et al. Impact of skeletal maturation on bone metabolism biomarkers and bone mineral density in healthy Brazilian male adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. 2011;87:450-6.

Taranta A, Brama M, Teti A, De Luca V, Scandurra R, Spera G, et al. The selective estrogen receptor modulator raloxifene regulates osteoclast and osteoblast activity in vitro. *Bone*. 2002;30:368-76.

Tobiume H, Kanzaki S, Hida S, Ono T, Moriwake T, Yamauchi S, Tanaka H, Seino Y. Serum bone alkaline phosphatase isoenzyme levels in normal children and children with growth hormone (GH) deficiency: a potential marker for bone formation and response to GH therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Jul;82(7):2056-61.

Toylamat LL, Kaunitz AM. Use of hormonal contraception in adolescents: skeletal health issues. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2009;21:396-401.

Van Coeverden SCCM, Netelenbost JC, Ridder CM, Roost JC, Popp-Snijders C, Delemarre-van de Wall HA. Bone metabolism markers and bone mass in health pubertal boys and girls. *Clin Endocrinol*. 2002;57:107-16.



- Vatanparast H 1 , Baxter-Jones A , Faulkner RA , Bailey DA , Whiting SJ Positive effects of vegetable and fruit consumption and calcium intake on bone mineral accrual in boys during growth from childhood to adolescence: the University of Saskatchewan Pediatric Bone Mineral Accrual Study. *Am J Clin Nutr.* 2005 Sep;82(3):700-6
- Vieira LM, Saes SO, Dória AAB, Goldberg TBL. Reflexões sobre a anticoncepção na adolescência no Brasil. *Rev Bras Saúde Matern Infant.* 2006;6(1):135-40.
- Viereck V, Gründker C, Blaschke S, Niederkleine B, Siggelkow H, Frosch KH, et al. Raloxifene concurrently stimulates osteoprotegerin and inhibits Interleukin-6 production by human trabecular osteoblasts. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88: 4206-13.
- Warholm L, Petersen KR, Ravn P. Combined oral contraceptives' influence on weight, body composition, height, and bone mineral density in girls younger than 18 years: a systematic review. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2012;17(4):245-53. doi: 10.3109/13625187.2012.692411.
- Weise M, De-Levi S, Barnes KM, Gafni RI, Abad V, Baron J. Effects of estrogen on growth plate senescence and epiphyseal fusion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001; 98(12):6871-6.
- Wiren KM Androgens and bone growth: it's location, location, location. *Curr Opin Pharmacol.* 2005 Dec;5(6):626-32. Epub 2005 Sep 26.
- Wiren KM, Toombs AR, Semirale AA, Zhang X Osteoblast and osteocyte apoptosis associated with androgen action in bone: requirement of increased Bax/Bcl-2 ratio. *Bone.* 2006 May;38(5):637-51. Epub 2006 Jan 18.
- World Health Organization. Young People's Health - a Challenge for Society. Report of a WHO Study Group on Young People and Health for All. Geneva: WHO; 1986. [Technical Report Serie, 731].
- World Health Organization. Avaliação do risco de fratura e sua aplicação para rastreio de osteoporose pós-menopausa. Relato de um Grupo de Estudo da OMS. Genebra: Organização Mundial de Saúde; 1994.
- World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva: WHO; 2003. (Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation; WHO Technical Report Series, 916).

World Health Organization. Scientific group on the assessment of osteoporosis at primary health care level. Geneva; 2007.

World Health Organization. Centre for Metabolic Bone Diseases. Assessment of osteoporosis at the primary health care level [Internet]. Sheffield: University of Sheffield; 2007 [citado 20 Nov 2012]. Disponível em: [http://www.shef.ac.uk/FRAX/pdfs/WHO\\_Technical\\_Report.pdf](http://www.shef.ac.uk/FRAX/pdfs/WHO_Technical_Report.pdf)

World Health Organization. Adolescents pregnancy. Geneva; 2014 (Fact sheet, 364) [citado 2014 Oct]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs364/en/>

Ziglar S, Hunter TS. The effect of hormonal oral contraception on acquisition of peak bone mineral density of adolescents and young women. *J Pharm Pract.* 2012;25(3): 331-40.

## 9. ANEXOS

### Anexo I



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Comparação entre as Densidades Minerais Ósseas de Adolescentes usuárias de duas formulações de Anticoncepcionais Hormonais de Baixa Dosagem e sua relação com marcadores ósseos de formação e reabsorção

**Pesquisador:** Anapaula da Conceição Bisi Rizzo

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 52928416.6.0000.5411

**Instituição Proponente:** Departamento de Pediatria

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.441.169

##### Apresentação do Projeto:

O presente estudo consiste na análise dos dados oriundos de três estudos prévios realizados com adolescentes matriculadas no Ambulatório de Medicina do Adolescente da Faculdade de Medicina de Botucatu, cujos participantes são adolescentes do sexo feminino de 12 a 20 anos incompletos, usuárias de contraceptivo oral

##### Objetivo da Pesquisa:

**Objetivo Primário:**

Avaliar prospectivamente as repercussões sobre o metabolismo ósseo de adolescentes de 12 a 20 anos incompletos, usuárias de contraceptivo oral de baixa

dosagem por período de um ano frente a resultados provenientes de adolescentes

saudáveis não usuárias.

**Objetivo Secundário:**

-Avaliar a Densidade Mineral Óssea (DMO) e o Conteúdo Mineral Ósseo da região lombar, do colo do fêmur proximal, do corpo total e do corpo subtotal (sem o segmento cabeça) de adolescentes.

Endereço: Chácara Butignoli, s/n

Bairro: Rubião Junior

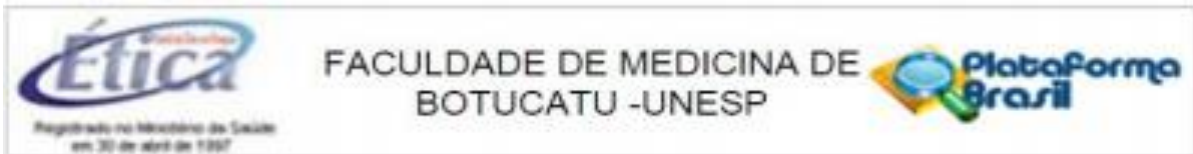
UF: SP

Telefone: (14)3880-1608

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.441.109

do sexo feminino de 12 a 20 anos incompletos, usuárias de COC de baixa dosagem padronizado por período de um ano de seu uso.

- Comparar dados obtidos pela avaliação das DMO e CMO em adolescentes usuárias de COC, pelo tempo programado, com resultados provenientes de adolescentes saudáveis do mesmo sexo e faixa etária, não usuárias de COC.

- Avaliar os marcadores de formação (Osteocalcina e Fosfatase Alcalina Óssea ) e de reabsorção (S-CTx) de adolescentes do sexo feminino de 12 a 20 anos incompletos, usuárias de COC de baixa dosagem padronizado por período de um ano de seu uso.

- Comparar dados obtidos pela avaliação dos biomarcadores ósseos propostos obtidos de adolescentes usuárias de COC pelo tempo programado, com resultados provenientes de adolescentes saudáveis do mesmo sexo e faixa etária, não usuárias de COC.

- Correlacionar os níveis dos marcadores bioquímicos da remodelação óssea em adolescentes usuárias de COC às Densidades Minerais Ósseas (DMO) realizadas em coluna lombar (L1-L4), corpo total e subtotal.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

Não possui riscos uma vez que os dados já foram coletados.

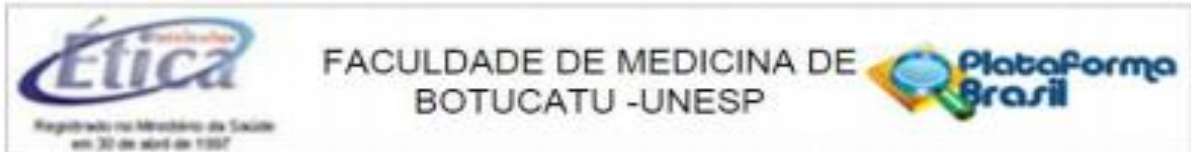
Benefícios:

Avaliar qual contraceptivo oral combinado é o mais indicado para as adolescentes visto ser este período crucial para aquisição de massa óssea e garantir uma saúde óssea adequada na adultícia, evitando o surgimento de patologias como a osteoporose e suas consequências.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O presente estudo é um projeto de doutorado no qual será feita uma análise de dados já coletados de adolescentes usuárias de contraceptivo oral. Os dados já foram coletados de estudo anteriores e já aprovados por este CEP com delineamento bem estruturado. O tamanho amostral foi de 122

Endereço: Chácara Butignoli, s/n	CEP: 18.618-970
Bairro: Rubião Junior	
UF: SP	Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608	E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.441.169

pacientes. Constatam critérios de inclusão e exclusão utilizados e análise estatística dos dados

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Constam todos os termos exigidos por este CEP. Como é apenas uma análise de dados já coletados, os autores solicitam dispensa do TCLE, o que é pertinente no presente caso.

**Recomendações:**

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Projeto pode ser aprovado sem necessidade de enviar à CONEP.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Projeto de pesquisa APROVADO, deliberado em reunião do CEP de 07 de março de 2016, sem necessidade de envio à CONEP.

O CEP solicita aos pesquisadores que após a execução do projeto em questão, seja enviado para análise o respectivo "Relatório Final de Atividades", o qual deverá ser enviado via Plataforma Brasil na forma de "NOTIFICAÇÃO".

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_631552.pdf	25/01/2016 11:13:28		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	TRABALHODOUTORADO_25_11_2015.docx	25/01/2016 11:12:34	Anapaula da Conceição Bisi Rizzo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DeclaracaoEAP.pdf	25/01/2016 11:06:20	Anapaula da Conceição Bisi Rizzo	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	25/01/2016 11:05:35	Anapaula da Conceição Bisi Rizzo	Aceito

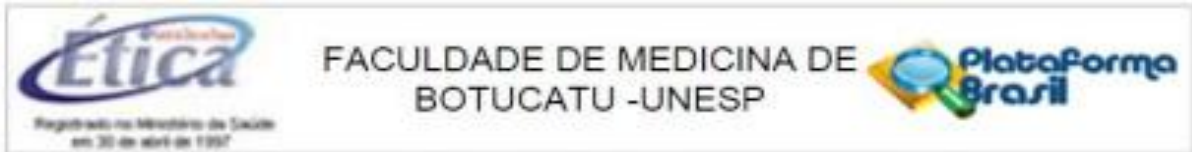
**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Chácara Butignoli, s/n  
 Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970  
 UF: SP Município: BOTUCATU  
 Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.441.169

BOTUCATU, 07 de Março de 2016

---

Assinado por:  
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA  
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignoli, s/n  
Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970  
UF: SP Município: BOTUCATU  
Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capellup@fmb.unesp.br