

Talita Poli Biason

**Densidade Mineral Óssea em Adolescentes
Usuárias de Anticoncepcional Oral Combinado**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP para obtenção do título de Mestre

**Orientadora: Prof^a Dra Tamara Beres Lederer
Goldberg**

**Botucatu-SP
2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSANGELA APARECIDA LOBO**

Biason, Talita Poli.

Densidade mineral óssea em adolescentes usuárias de anticoncepcional oral combinado / Talita Poli Biason. – Botucatu: [s.n.], 2013

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Tamara Beres Lederer Goldberg

Capes: 40101150

1. Adolescentes.
2. Anticoncepcionais orais.
3. Densimetria óssea.
4. Osteoporose.
5. Ossos – Doenças – Diagnóstico.
6. Minerais no organismo.

Palavras-chave: Adolescente; Anticoncepcionais; Conteúdo mineral ósseo; Densidade óssea.

Dedicatória

A **Deus**, meu refúgio e fortaleza, por tudo

o que sou e tenho hoje.

Aos meus pais, **Jonas e Maria Adélia**, pelo amor e incentivo aos estudos que recebi

durante toda minha vida.

Ao meu marido, **Luiz Kirsch**, meu grande amor e companheiro, pelo apoio e

compreensão

durante mais essa trajetória.

A **Ana**, minha filha, por ser a razão do meu viver

e fonte de toda minha inspiração.

Agradecimientos

Agradeço em especial à **Prof.ª Dr.ª Tamara Beres Lederer Goldberg**, não só por sua dedicação e por tudo que ensinou-me, mas principalmente pela amizade e parceria nos últimos quatro anos; agradeço a confiança em mim depositada e a oportunidade de trabalhar e aprender ao seu lado.

À mestre e professora substituta da disciplina de medicina do adolescente da Faculdade de Medicina de Botucatu- UNESP, **Dr.ª Anapaula da Conceição Bisi Rizzo**, pela ajuda durante a coleta de dados.

À **Prof.ª Cilmerly Suemy Kurokawa** e a toda a equipe do laboratório de pediatria experimental, pelas sugestões e apoio durante o desenvolvimento desta dissertação.

Ao **Prof. Dr. Altamir dos Santos Teixeira** e a equipe da radiologia, pela dedicação e qualidade dos serviços prestados, sem os quais esta dissertação não seria possível.

Ao **Prof. Hélio Nunes**, pelo empenho e paciência na elaboração da análise estatística.

À nutricionista e mestranda do programa de Pós-graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia, **Valéria Nóbrega da Silva**, pelo trabalho conjunto durante a coleta e análise dos dados e pela amizade que se consolidou durante o período de convivência.

A **Janaína de Sales Kastorsky**, minha secretária e amiga, que organizou minha vida e tornou possível minha dedicação a esta dissertação.

A **Mira Kirsch**, minha sogra, pela ajuda inigualável nos cuidados com minha filha durante os momentos em que precisei estar ausente.

Aos amigos inestimáveis **Benito Lourenço, Maria Carvalho e Renata Andrade**, por estarem ao meu lado durante a elaboração desta dissertação, apoiando-me e incentivando-me.

Às **adolescentes e aos seus responsáveis**, por compreenderem a importância deste trabalho e comparecerem aos exames agendados.

Sumário

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Introdução | 1 |
| 1.1 | Puberdade, Estrógeno e Fisiologia Óssea | 2 |
| 1.2 | Avaliação Prática da Massa Óssea..... | 6 |
| 1.3 | Pico de Massa Óssea e Osteoporose | 7 |
| 1.4 | Anticoncepção na Adolescência | 8 |
| 1.5 | Anticoncepcional Hormonal e Massa Óssea..... | 10 |
| 2 | Objetivos | 15 |
| 3 | Casuística e Métodos..... | 17 |
| 3.1 | Sujeitos | 18 |
| 3.2 | CrITÉrios de Inclusão | 19 |
| 3.3 | CrITÉrios de não Inclusão..... | 20 |
| 3.4 | CrITÉrios de Exclusão | 21 |
| 3.5 | Caracterização Dietética | 21 |
| 3.6 | Antropometria..... | 22 |
| 3.7 | Exame ClÍNico e AvaliaÇão dos Caracteres Sexuais Secundários | 22 |
| 3.8 | Dosagem de Estradiol SÉrico..... | 23 |
| 3.9 | Radiografia de MÃO e Punho..... | 23 |
| 3.10 | Densitometria Óssea..... | 24 |
| 3.11 | Análise Estatística | 25 |
| 4 | Artigo Científico Encaminhado para Publicação..... | 26 |
| 5 | Conclusões..... | 44 |
| 6 | Considerações | 46 |
| 7 | Referências Bibliográficas..... | 48 |
| 8 | Anexos | 58 |
| 8.1 | TCLE | 59 |
| 8.2 | Caracterização Dietética | 62 |
| 8.3 | Tabelas | 66 |
| 8.3.1 | Comparação entre os Momentos iniciais, 6 e 12 Meses de Seguimento das Adolescentes Usuárias de AOC..... | 66 |
| 8.3.2 | Estradiol SÉrico das Adolescentes Pertencentes ao Grupo de Usuárias de AOC, após 6 Meses da Introdução de EE 20 µg / Desogestrel 150 µg..... | 67 |
| 8.3.3 | Documentação..... | 68 |

Abreviaturas

| | |
|---------------|---|
| AH | Anticoncepcionais Hormonais |
| AMP | Acetado de Medroxiprogesterona |
| AOC | Anticoncepcionais Orais Combinados |
| CMO | Conteúdo Mineral Ósseo |
| DMO | Densidade Mineral Óssea |
| DXA | Densitometria Óssea |
| EE | Etinilestradiol |
| FSH | Hormônio Folículo Estimulante |
| GH | Hormônio de Crescimento |
| GnRH | Hormônio Liberador de Gonadotrofina |
| GP | Greulich & Pyle |
| IC | Idade Cronológica |
| IGF-1 | Fator de Crescimento Semelhante à Insulina tipo 1 |
| IMC | Índice de Massa Corporal |
| IO | Idade Óssea |
| ISCD | International Society for Clinical Densitometry |
| LH | Hormônio Luteinizante |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PMO | Pico de Massa Óssea |
| PVC | Pico de Velocidade de Crescimento |
| SINASC | Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido |

Resumo

Objetivo: Avaliar a densidade mineral óssea (DMO) e o conteúdo mineral ósseo (CMO) de adolescentes do sexo feminino, usuárias de anticoncepcional oral combinado (AOC) de baixa dosagem padronizado (EE 20 µg/ Desogestrel 150 µg), por período de um ano de seu uso e comparar os dados obtidos aos de adolescentes saudáveis da mesma faixa etária, não usuárias.

Casuística e métodos: Trata-se de um estudo controlado paralelo não randomizado. Sessenta e sete adolescentes, de 12 a 20 anos de idade, foram divididas em grupo de usuárias de AOC (n=41) e grupo controle (n=26). As adolescentes pertencentes aos dois grupos foram submetidas a exame físico geral e especial para obtenção de peso, estatura, índice de massa corpórea (IMC), avaliação dos caracteres sexuais secundários (critérios de Tanner), obtenção de idade óssea (IO) pelo método de Greulich & Pyle, ingestão de cálcio obtida pelo recordatório de 3 dias e obtenção da idade do evento menarca. As usuárias de AOC foram submetidas ao exame de Densitometria Óssea por atenuação de raio x de dupla energia (DXA), no momento de inclusão no trabalho; 6 e 12 meses depois, para obtenção de CMO (g) e DMO (g/cm²) em região lombar (L1-L4), fêmur proximal total, corpo total e corpo subtotal. O grupo controle foi avaliado através da DXA, no momento inicial; 12 meses depois, para obtenção de DMO e CMO, nos mesmos locais. A comparação entre as variáveis dos grupos de não usuárias e usuárias de AOC, no momento zero, foi realizada através do teste de Mann-Whitney, fixado o nível de significância de 5% ou utilizado o p-valor correspondente, enquanto para a comparação evolutiva dos grupos utilizou-se a variação das porcentagens das medianas das variáveis relativas à massa óssea, nos momentos inicial e final.

Resultados: Não houve diferenças estatísticas nas comparações entre as idades cronológicas (IC) e IO, entre as variáveis antropométricas e as resultantes do exame de densitometria óssea, no momento inicial entre o grupo de usuárias de AOC e o grupo controle. No entanto, após 12 meses de acompanhamento, as usuárias de AOC apresentaram médias de porcentagem de variação entre os momentos inicial e final na DMO e CMO de coluna lombar de +2,07% e +1,57% respectivamente; enquanto o grupo controle apresentou variações, respectivamente, de +12,16% e +16,84%. As DMO e CMO do corpo total apresentaram comportamento semelhante; no grupo em uso de AOC a variação foi de +0,84% e +1,22%, dados consideravelmente menores que os encontrados para o grupo controle, em que houve acréscimos de +5,28% e +11,34%. Houve diferença estatística significativa (p<0,05) entre as variações percentuais obtidas entre os grupos com e sem uso de ACO em relação ao CMO, entretanto diferenças estatísticas no tocante às variações percentuais para DMO não foram constatadas.

Conclusão: O AOC de baixa dosagem analisado (EE 20 µg/ Desogestrel 150 µg) interfere negativamente no processo de aquisição de massa óssea que ocorre na adolescência.

Palavras-chave: adolescente; densidade óssea; conteúdo mineral ósseo; anticoncepcionais; osteoporose

Abstract

Objective: To evaluate bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) in female adolescents taking a standard low dose (EE 20µg/ Desogestrel 150µg) combination oral contraceptive (COC) over a one year period and comparing them to healthy adolescents from the same age group not taking COC's.

Subjects and Methods: A non-randomized parallel control study with 67 adolescents from 12 to 20 years of age divided into user (COC; n=41) and control (n=26) groups. Both groups were submitted to a general physical and specific examination for weight, height, body mass index (BMI), secondary sexual characteristics evaluation (Tanner criteria), bone age (BA) by the Greulich & Pyle method, calcium intake by 3 days diet recording, and obtaining age at menarche. COC users underwent bone density exam by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) at time of inclusion in the study and at 6 and 12 months, to obtain BMC (g) and BMD (g/cm²) in the lumbar (L1-L4) and total proximal femur regions, for whole body and subtotal whole body. The Control group underwent DXA at inclusion and 12 months to obtain BMD and BMC in the same locations. Comparisons between groups at moment zero was through the Mann-Whitney test with significance level fixed at 5% or corresponding p value; evolutive group comparisons used variations in median percentages for bone mass variables at start and final moments.

Results: There were no statistical differences in chronological (CA) and BA, anthropometric variables, and bone densitometry results at the initial moment between COC and control groups. However after 12 months follow-up, COC users presented low bone mass acquisition in the lumbar spine BMD and BMC median variation percentages between initial and final moments (+2.07% and +1.57% respectively) while the control group presented expressive variations (+12.16% and +16.84% respectively). Total body BMD and BMC presented similar behaviour; variation in the COC group was +0.84% and +1.22%, considerably lower than controls where increases were +5.28% and +11.34%, respectively. Statistical significance (p<0.05) was seen for the percentage variations obtained between COC user and non-user groups for BMC, but not for BMD.

Conclusion: The low COC dose analysed (EE 20µg/ Desogestrel 150µg) negatively interfered in bone mass acquisition during adolescence.

Keywords: *adolescent; bone density; bone mineral content; contraceptives; osteoporosis*

1 Introdução

1.1 Puberdade, Estrógeno e Fisiologia Óssea

A adolescência é a fase de transição da infância para a vida adulta definida, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), como um período de grandes transformações biopsicossociais, compreendido entre os 10 anos completos e os 20 anos incompletos (WHO, 1986).

As transformações físicas que ocorrem durante a adolescência são denominadas de puberdade. As alterações mais evidentes na puberdade, englobam a aceleração e a desaceleração do crescimento, a modificação da composição corporal e a maturação sexual que se apresenta pelo desenvolvimento das gônadas, dos órgãos de reprodução e dos caracteres sexuais secundários.

A alteração do pulso do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) é o principal responsável pelo início da puberdade. Cerca de um a três anos antes do aparecimento dos sinais pubertários há aumento da secreção pulsátil do GnRH pelo hipotálamo. Esse aumento ocorre, inicialmente, de forma episódica com aumento progressivo em frequência e amplitude com o progredir da puberdade. A mudança no padrão secretor do GnRH estimula a secreção, pela hipófise anterior, do hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH) (Ojeda et al., 2006). No sexo feminino, o LH estimula as células ovarianas da teca a produzirem androstenediona e testosterona, enquanto o FSH age nas células da granulosa, aumentando a produção estrogênica (Nebesio & Eugster, 2007).

O estrogênio é um dos principais hormônios envolvidos no crescimento ósseo longitudinal que ocorre durante a puberdade. O aumento dos níveis estrogênicos estimula diretamente a placa epifisária, aumentando a velocidade

de crescimento durante o estirão pubertário (Grumbach, 2000). O estrogênio também atua aumentando a secreção pulsátil do hormônio de crescimento (GH), com conseqüente aumento de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1). Em contrapartida, os 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).

Simultaneamente ao processo de crescimento ósseo longitudinal observado na puberdade, ocorre o aumento da aquisição de massa óssea. O tecido ósseo é formado por células denominadas osteoblastos e osteoclastos, por minerais (cálcio e fósforo) e por uma matriz orgânica constituída de proteínas colágenas e não colágenas. Os osteoblastos sintetizam e mineralizam a matriz proteica, enquanto os osteoclastos promovem a reabsorção óssea, mantendo o tecido ósseo em constante processo de remodelação (Campos et al., 2003; Silva et al., 2004). Na puberdade, a taxa de formação óssea supera a de reabsorção, favorecendo o incremento ósseo.

Cerca de 40 a 45% da massa óssea evidenciada na fase da adultícia é adquirida na adolescência (Bailey et al., 2000). É durante a puberdade que ocorre a máxima aquisição óssea (Heaney et al., 2000; Silva et al., 2004; Bonjour et al., 2009; Boot et al., 2010). Esse momento é frequente no sexo feminino, entre 13 e 14 anos, ou quando essas adolescentes encontram-se em estadiamento de desenvolvimento puberal mamário M3, pelos critérios de Tanner (Marshall e Tanner, 1969); no sexo masculino, entre 14 e 15 anos ou quando encontram-se em estadiamento puberal G4 (Campos et al., 2003; Vargas et al., 2003; Silva et al., 2004; Goldberg et al., 2009; Moretto et al., 2011). Tanto no sexo feminino como no masculino, a aquisição óssea máxima

ocorre poucos meses após o crescimento ósseo longitudinal máximo; que é denominado pico de velocidade de crescimento (PVC) e marcado por altas concentrações de hormônios sexuais.

O estrogênio tem um papel fundamental na mineralização óssea e na manutenção da massa óssea. Tem sido relatada a presença de receptores estrogênicos nos osteoblastos e osteoclastos (Kusec et al., 1998; Bord et al., 2001) sugerindo a participação celular direta desse hormônio no processo de remodelação óssea. Smith e colaboradores (1994) relataram caso de homem de 28 anos, portador de uma mutação do receptor estrogênico, com quadro clínico de resistência estrogênica, apresentando ausência de fechamento epifisário (idade óssea de 15 anos, estatura de 2,04 m) e massa óssea muito baixa, com marcadores bioquímicos de reabsorção óssea elevados. Tal relato teve importância na literatura científica por demonstrar, claramente, as consequências fisiológicas da ausência de resposta estrogênica no tecido ósseo que ocorrem nesta situação não por falta do hormônio, mas por sua incapacidade de atuação.

Estudos experimentais demonstram que o estrogênio reduz, principalmente através do aumento da apoptose, a formação e atividade dos osteoclastos, diminuindo a reabsorção óssea. Apesar de ainda controverso, o estrogênio parece também influenciar positivamente na formação, diferenciação, proliferação e atividade dos osteoblastos, estimulando a formação óssea (Chow et al., 1992; Hughes et al., 1996; Manolagas, 2000).

Além da ação direta estrogênica sobre o tecido ósseo, esse hormônio também age aumentando a absorção intestinal de cálcio, matéria prima fundamental para a mineralização óssea. O mecanismo pelo qual o estrogênio leva a esse aumento, ainda é obscuro. Alguns autores acreditam que o efeito

do estrogênio, na absorção do cálcio, ocorra por influência no sistema endócrino da vitamina D (Cotter & Cashman, 2006), enquanto outros sugerem a ação direta estrogênica em receptores intestinais (Colin et al., 1999). A atuação estrogênica, independentemente do mecanismo envolvido, torna-se evidente em estudos experimentais que detectam baixa absorção de cálcio em animais ovariectomizados e que evoluem com melhora na absorção intestinal desse micronutriente após suplementação estrogênica (van Abel et al., 2003).

A relevância do estrogênio no metabolismo ósseo fica muito mais evidente tanto em adolescentes, como em mulheres adultas, nas situações em que há queda ou ausência dos níveis desse hormônio como, por exemplo, nas pacientes em amenorreia ou com falência ovariana. Christo e colaboradores (2008) acompanharam adolescentes entre 12 e 18 anos, subdivididas em três grupos: atletas em amenorreia (n=21), atletas com ciclos menstruais regulares (n=18) e adolescentes eumenorreicas que não praticavam atividades esportivas, as quais denominaram grupo controle (n= 18). Nesse estudo, o grupo de atletas em amenorreia apresentou densidade mineral óssea de região lombar significativamente menor que as adolescentes dos outros dois grupos.

O hipoestrogenismo pós-menopausa é outra causa, bem documentada na literatura, de perda de massa óssea. Mulheres menopausadas têm diminuição significativa da densidade mineral óssea e chegam a perder até 5% por ano de osso trabecular, nos primeiros anos pós-menopausa (Almstedt Shoepe & Snow, 2005; Lash et al., 2009). Se por um lado a ausência ou queda do estrogênio está relacionada à diminuição de massa óssea, a suplementação desse hormônio, nessas mulheres com déficit, tem sido associada à melhora da densidade mineral óssea (Almstedt Shoepe & Snow, 2005; Nappi et al., 2012).

1.2 Avaliação Prática da Massa Óssea

O processo de incorporação da massa óssea pode ser avaliado de forma prática, através da densitometria óssea por atenuação de raio-x de dupla energia (DXA). Essa técnica permite, de forma não invasiva, a quantificação da densidade mineral óssea e é realizada através da aplicação de 2 feixes de energias distintas os quais são atenuados, de modo diferenciado, pelos tecidos ósseo e adjacente. Programas de computadores específicos eliminam a participação do tecido adjacente na densidade medida e a densidade mineral óssea pode ser, então, mensurada.

A 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 μrem) 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). Quando necessário o seguimento do paciente com DXA seriados, como por exemplo, nos indivíduos em tratamento com glicocorticoides que sabidamente podem evoluir com redução de massa óssea, é recomendado que os exames sejam realizados no mesmo aparelho de DXA, com intervalo não

inferior a 6 meses e por técnico único, treinado e habilitado para sua obtenção (Gordon et al., 2008; Lash et al., 2009).

1.3 Pico de massa óssea e Osteoporose

A osteoporose é considerada um importante problema de saúde pública que acomete populações residentes tanto em países desenvolvidos, como naqueles em desenvolvimento. Estudos relatam que 30% a 50% das mulheres e 13% a 22% dos homens, com mais de 50 anos, sofrerão algum tipo de fratura decorrente da instalação e progressão da osteoporose (Camargo et al., 2005; Johnell & Kanis, 2005; McCormick, 2007).

A OMS define osteoporose como uma doença sistêmica esquelética, caracterizada por diminuição da massa óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, com consequente aumento da fragilidade óssea e da suscetibilidade a fraturas (WHO, 1994).

Até pouco tempo, a osteoporose era subdiagnosticada e considerada um resultado inevitável do envelhecimento. Nos últimos anos, após a percepção do alto impacto social e econômico que essa doença pode causar, investimentos e pesquisas proporcionaram melhora da qualidade e do acesso à tecnologia para diagnóstico precoce; hoje, é possível detectar e tratar a osteoporose antes da ocorrência de fraturas (Kanis, 2007). Contudo, não é apenas o diagnóstico precoce da osteoporose que ganha importância nos estudos atuais, a prevenção dessa patologia tem sido cada vez mais divulgada como necessária. Embora as manifestações da osteoporose ocorram em geral, mais tardiamente como já assinalado, é durante a infância e adolescência que se deve iniciar sua prevenção, pois é nesse período que ocorre a aquisição de

90 a 95% de toda massa óssea. Esse processo de incremento ósseo intenso que ocorre até o final da segunda década de vida tem sido denominado, por diversos autores, pico de massa óssea (PMO) (Heaney et al., 2000; Leonard & Zemel, 2002; Riggs et al., 2002; Rizzoli et al., 2010).

O PMO adquirido de forma adequada pode reduzir o risco de fratura tanto na própria infância e adolescência, como na senilidade, enquanto um PMO baixo constitui um dos maiores determinantes do desenvolvimento de osteopenia/osteoporose no futuro (Cassidy, 1999; Heaney et al., 2000; Saggese et al., 2001; Rizzoli et al., 2010).

1.4 Anticoncepção na Adolescência

A gravidez que ocorre durante os anos que correspondem à adolescência é considerada um problema de magnitude no cenário da saúde pública (Vieira et al., 2006), tanto pelas repercussões psicossociais e econômicas como também pela maior incidência de complicações obstétricas, tais como doença hipertensiva específica da gestação, placenta prévia, sofrimento fetal, prematuridade e baixo peso ao nascimento, entre outras (Jolly et al., 2000). No Brasil, no ano de 2009, segundo dados do Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos (SINASC), ao redor de 20% de todos os nascidos vivos eram filhos de mães entre 10 e 19 anos de idade. Em algumas regiões do país, os filhos de mães adolescentes chegam a representar 28% do total de nascimentos (Ministério da Saúde, 2012).

Apesar da prevalência da gravidez na adolescência ser ainda considerada elevada no Brasil, nota-se uma tendência de diminuição nos últimos anos, principalmente entre aquelas que pertencem ao recorte etário de

15 a 19 anos, evento não confirmado entre aquelas de 10 a 14 anos. Em 1999, a porcentagem de filhos de mães na faixa etária da adolescência, no território nacional, era de 23% dos nascidos vivos, cerca de 3% maior que os dados divulgados relativos a 2009 (Ministério da Saúde, 2012). Esses dados podem ser explicados, de forma parcial, pela melhoria de acesso ao sistema de saúde, pela capacitação de profissionais voltados ao atendimento de adolescentes, pela proposição de políticas públicas dirigidas a essa fase da vida e pela possibilidade de acesso aos métodos contraceptivos por pacientes nessa faixa etária.

De fato, verifica-se um aumento no uso de métodos contraceptivos pelos adolescentes, nos últimos anos (Abramovay et al., 2004), sendo os anticoncepcionais orais combinados o segundo método contraceptivo mais utilizado entre as adolescentes, apenas menos frequente que o uso de preservativo masculino (Ferreira et al., 2000; Abramovay et al., 2004). Entretanto, dentre todos os métodos hormonais disponíveis, o AOC ocupa a liderança em utilização (Herrmann & Seibel, 2009).

O mecanismo de ação dos AOC é bem conhecido, atualmente. A combinação de estrogênio e progesterona sintéticos, presentes no AOC, inibe a secreção de gonadotrofinas tanto pelos centros hipofisários como pela atuação na secreção pulsátil do GnRH hipotalâmica, resultando na supressão do eixo hipotálamo-hipófese-gonadal. O progestagênio suprime, através de *feedback* negativo, a secreção do LH e, como consequência, a ovulação. Além disso, também torna o endométrio menos receptivo à implantação do zigoto, altera o muco cervical dificultando o transporte do espermatozóide e diminui o peristaltismo da trompa de falópio. Outro aspecto a ser salientado é que

apresentam atuação direta sobre o ovário, reduzindo a produção de estrogênio endógeno (Kiley & Hammond, 2007; Herrmann & Seibel, 2009).

Já, o componente estrogênico inibe a secreção do FSH, inibindo assim a emergência de um folículo dominante. Em adição, estabiliza o endométrio, contrabalanceia o efeito de atrofia ocasionado pelo progestagênio evitando, desta forma, o sangramento irregular. O estrogênio potencializa a ação progestagênica e sua presença no AOC, mesmo que em baixa dosagem, permite a redução da quantidade de progestagênio utilizada (Kiley & Hammond, 2007; Herrmann & Seibel, 2009; Dhont, 2010).

O componente estrogênico da grande maioria dos AOC disponíveis no mercado é o etinilestradiol (EE), um estrogênio obtido, em 1938, através da modificação da estrutura química do estradiol natural, pela adição de um grupo etinil. Inicialmente utilizado em altas doses, o EE apresentou efeitos adversos frequentes e, a partir da década de 70, sua dose foi progressivamente reduzida; atualmente, a grande maioria dos AOC prescritos contém doses de 15 a 35 µg desse componente (Dhont, 2010). Todos os anticoncepcionais orais que contêm doses inferiores a 50 µg de EE são denominados de baixa dosagem e os com doses abaixo de 20 µg reconhecidos como de muito baixa dosagem (Nappi et al., 2012).

1.5 Anticoncepcional Hormonal e Massa Óssea

Alguns anticoncepcionais hormonais já têm seu impacto sobre a massa óssea bem determinado na literatura. O acetado de medroxiprogesterona (AMP), um anticoncepcional progestagênico injetável de longa duração, amplamente utilizado no mundo todo, teve seu efeito negativo sob a massa

óssea relatado em trabalhos científicos, pela primeira vez, no ano de 1991 por Cundy e colaboradores. Nesse estudo, foram avaliadas 30 mulheres com idades entre 25 e 50 anos, em uso de AMP por um período médio de 10 anos. As pacientes foram comparadas com 30 mulheres sem uso de anticoncepcional hormonal, da mesma faixa etária e com mais 30 mulheres pós-menopausa. As mulheres em uso de AMP tiveram DMO significativamente mais baixa que o grupo controle em região lombar e fêmur, porém os resultados provenientes de suas DMO eram maiores que os apresentados pelo grupo de mulheres menopausadas (Cundy et al., 1991).

Vários autores seguiram pesquisando, em mulheres adultas, a interferência da AMP sob a massa óssea com resultados semelhantes aos encontrados por Cundy e colaboradores (1991). Concomitantemente, a faixa etária da adolescência passa a ser estudada e os resultados mostram que o uso da AMP por essas pacientes também se associa à diminuição da DMO, fase em que, pelo contrário, deveria haver ganho de massa óssea (d'Arcangues, 2006; Martins et al., 2006).

Scholes e colaboradores (2005) publicaram um estudo envolvendo 170 adolescentes entre 14 e 18 anos de idade, divididos em dois grupos: usuárias de AMP (n=80) e não usuárias (n=90). Essas adolescentes foram acompanhadas com DXA no momento inicial e, a seguir, a cada seis meses até completarem 36 meses de acompanhamento. No final do seguimento, as pacientes usuárias de AMP apresentaram DMO significativamente menor, em coluna lombar e fêmur, que aquelas não usuárias. Contudo, pacientes que descontinuaram o tratamento durante o estudo passaram a ganhar massa óssea em ritmo maior que suas controles, sugerindo que a diminuição da DMO secundária ao AMP poderia ser reversível (Scholes et al., 2005).

Walsh e colaboradores (2008) estudaram 100 mulheres usuárias de AMP (com tempo de uso médio de 37 meses), com idades entre 18 e 45 anos, dividindo-as em dois grupos etários e compararam-nas com não usuárias da mesma faixa etária. O grupo com idades entre 18 e 25 anos apresentou DMO significativamente menor que suas controles, o que não foi observado entre as mulheres mais velhas, sugerindo que a interferência na incorporação da massa óssea pelo AMP possa ser tanto mais evidente quanto mais próximo estejam as pacientes do PMO (Walsh et al., 2008), quando de sua utilização.

Embora pouco se conheça sobre a ação direta da AMP sob o metabolismo ósseo, assim como seu efeito sob a massa óssea não possa ser desprezado, parece que o mecanismo principal envolvido na diminuição da DMO que ocorre durante o uso dessa medicação é o estado de hipoestrogenismo das usuárias (Curtis & Martins, 2006; Walsh et al., 2008). Cromer e colaboradores (2005) realizaram um estudo duplo cego controlado, com 123 adolescentes de 12 a 18 anos que foram divididas em 2 grupos. Um dos grupos recebeu AMP trimensal e cipionato de estradiol mensalmente (ambos intramusculares), enquanto o outro grupo recebeu AMP trimensal e solução fisiológica também mensal e intramuscular (placebo). As pacientes foram avaliadas após 12 e 24 meses de tratamento; as adolescentes do grupo que recebeu suplementação estrogênica, apresentaram DMO em região lombar e femural significativamente maior que as que só receberam o AMP (Cromer et al., 2005). Esses achados corroboram com a hipótese do hipoestrogenismo ter papel crucial na diminuição ou não incremento da DMO nas usuárias de AMP.

A influência dos AOC sobre a DMO também tem sido amplamente discutida. Martins e colaboradores, em revisão sistemática da literatura

publicada no ano de 2006, concluíram que nas mulheres em pré-menopausa e pós-menopausa o uso de AOC pode melhorar a massa óssea, enquanto em mulheres adultas esse medicamento pareceu não interferir na DMO. Esses achados foram compartilhados, recentemente, por Nappi e colaboradores (2012), também em revisão sistemática. As consequências do uso de AOC sob a DMO em adolescentes e mulheres jovens têm sido igualmente investigadas nos últimos anos e os resultados ainda são controversos. Gai e colaboradores (2012) publicaram recente trabalho no qual estudaram um total de 450 adolescentes, entre 16 e 18 anos de idade, subdivididas da seguinte forma: pacientes em uso AOC de 35 µg de EE/acetato de ciproterona, de 30 µg de EE/ desogestrel, e sem AOC; não encontraram diferença significativa de DMO entre elas após um período observacional de 2 anos. Já, Cibula e colaboradores (2012), no mesmo ano, seguiram 56 adolescentes com idades entre 15 e 19,5 anos, divididas em grupos com uso AOC de 30 e 15 µg de EE, e compararam-nos com um terceiro grupo formado por 28 não usuárias. Esses autores encontraram DMO em coluna lombar significativamente maior entre aquelas não usuárias; dentre as em uso de AOC a DMO lombar foi maior nas pacientes que recebiam maior dosagem de EE. Uma explicação possível para esses achados seria que as formulações de baixa dosagem possuem quantidade insuficiente de estrogênio para sustentar a aquisição adequada e necessária de massa óssea na adolescência (Almstedt Shoepe & Snow, 2005; Tolaymat & Kauunitz, 2009).

De fato, considerando a influência do estrogênio sobre o metabolismo ósseo e a adolescência como um período crítico para aquisição de massa óssea, surge o questionamento sobre qual seria o efeito de medicações como os AOC sobre o processo de incremento ósseo na adolescência, ou mais

precisamente, qual a atuação dos AOC em sujeitos nos quais a massa óssea ainda não estivesse consolidada. Por alterarem a fisiologia do eixo hipotálamo-hipófise-gônada, e conseqüentemente os níveis de estrogênio, essas medicações poderiam, de forma indelével, interferir no ganho de massa óssea.

Assim, diante da importância do incremento exponencial da DMO que ocorre durante a fase da adolescência como possível prevenção ao desenvolvimento de osteoporose, e suas conseqüências na vida futura, e do uso frequente de AOC nessa época da vida, tornam-se necessárias pesquisas que avaliem o impacto dessa medicação no processo de aquisição de massa óssea, especificamente em jovens brasileiras.

2 Objetivo

Avaliar a DMO e CMO da região lombar, do colo do fêmur proximal, do corpo total e do corpo subtotal (sem o segmento cabeça) de adolescentes do sexo feminino de 12 a 20 anos incompletos, usuárias de AOC de baixa dosagem padronizado (EE 20 µg/ Desogestrel 150 µg), por período de um ano de seu uso, comparando os resultados obtidos com aqueles provenientes de adolescentes saudáveis do mesmo sexo e faixa etária, não usuárias de AOC.

3 Casuística e Métodos

3.1 Sujeitos

Para a realização do cálculo amostral, considerando um desvio-padrão semelhante entre os grupos e igual a 2, com erros tipo I e tipo II iguais a 0,05 e 0,20, respectivamente, estimou-se que uma amostra de 12 adolescentes em cada grupo, seria capaz de detectar diferenças na variação (em %) de até 2,29% entre os grupos.

Foram incluídas no estudo 41 adolescentes do sexo feminino de 12 a 20 anos incompletos, que aderiram ao protocolo, voluntárias, saudáveis, pós menarca e, portanto, em puberdade final (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 AOC. Padronizou-se o uso de AOC contendo EE 20 µg e 150 µg de desogestrel.

Da amostra inicial, 35 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 inicial, seis 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 AOC. As pacientes também eram estimuladas ao uso do preservativo masculino concomitantemente ao uso do AOC, visando à proteção contra doenças sexualmente transmissíveis.

Para realização dos exames, 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 da pesquisa. As adolescentes também estavam cientes do conteúdo da pesquisa e uma vez, considerando-se voluntárias, assinaram o consentimento livre e esclarecido (assentimento).

Os resultados individuais das 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.

Como controles, foram utilizados dados provenientes de 26 adolescentes saudáveis do sexo feminino, pertencentes às mesmas faixas etárias das que compuseram o grupo denominado estudo, porém não usuárias de AOC.

O presente trabalho obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa, da Faculdade de Medicina de Botucatu sob Protocolo nº 3444-2010.

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 AOC com finalidade contraceptiva. Essas adolescentes eram previamente hígdas, com estatura entre o 5º e o 95º percentil para cada faixa de idade e com índice de massa corporal (IMC) variando entre o 5º e <95º percentil, segundo curvas elaboradas pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (Kuczmarski et al., 2002). Todas as adolescentes, quer pertencessem ao grupo de estudo ou ao das controles, não poderiam ser tabagistas nem etilistas, não estavam vinculadas a qualquer modalidade esportiva extraescolar, 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 corticóides ou que utilizassem suplementação com cálcio e /ou ferro nos últimos doze meses que antecederiam a pesquisa. Também foram excluídas 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 adolescente que fizessem uso exclusivo de dieta vegetariana, aquelas com alto consumo de fibras, cafeína ou refrigerantes e as que não consumissem produtos lácteos diariamente.

3.4 Critérios de Exclusão

Do total de 41 adolescentes selecionadas foram excluídas 6 que, por qualquer motivação, deixaram de utilizar os AOC como prescritos.

3.5 Caracterização Dietética

A caracterização dietética foi realizada mediante a utilização de um registro alimentar de três dias, com objetivo de se obter informações sobre o consumo, preferências, recusas de alimentos e realização das principais refeições relacionadas ao cálcio e possíveis fatores que pudessem interferir na biodisponibilidade desse mineral (Cintra et al., 1997). A quantificação centesimal dos inquéritos alimentares foi efetuada mediante a utilização de um sistema computacional de análise nutricional, desenvolvido pelo Departamento

de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (Philipi et al., 1996).

3.6 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, a adolescente colocou-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: $IMC = \text{Peso Corporal (Kg)} / \text{Estatura (m}^2\text{)}$.

3.7 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 pêlos pubianos; o resultado foi confrontado com os critérios de Tanner (Marshall & Tanner, 1969).

3.8 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 imunoensaio de micropartículas por quimiluminescência (CMIA), utilizando-se o Kit ARCHITECT® Estradiol (Abbott Laboratories, USA) que apresenta precisão ≤ 5 pg/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).

3.9 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 & 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 era informado a qual grupo pertencia a adolescente que havia se submetido ao exame. Esse procedimento foi realizado tanto nas usuárias de AOC, quanto nas adolescentes pertencentes ao grupo controle, no momento zero e após 12 meses de seguimento.

3.10 Densitometria Óssea

As adolescentes que cumpriram todas as etapas anteriores, foram submetidas à avaliação da massa óssea no momento do início do uso do AOC, após seis meses de seu uso 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 da densidade, em g/cm^2 . Foi realizada a mensuração das regiões da coluna lombar entre L1-L4, do fêmur proximal total esquerdo, incluindo as regiões: colo do fêmur, região trocantérica, intertrocantérica e área de Ward, densitometria de corpo total e subtotal (sem segmento da cabeça). Todas as avaliações foram realizadas por apenas uma profissional técnica, habilitada para tal e a mesma, ao realizar o exame de densitometria, não era informada (avaliador cego) se a adolescente estava ou não usando algum AOC.

As adolescentes não usuárias de AOC realizaram DXA no momento de introdução ao estudo e 12 meses após.

As DXA obtidas após seis meses de seguimento das adolescentes usuárias de AOC serão utilizadas em pesquisa de coorte prospectivo que será apresentada posteriormente, quando se analisará a evolução das densitometrias no momentos zero, seis e 12 meses de uso continuado de ACO.

3.11 Análise Estatística

Para a avaliação da homogeneidade dos grupos de não usuárias (controles) e usuárias de ACO (momento zero) foi utilizado o teste de Mann-Whitney, fixado o nível de significância de 5% ou utilizado o p-valor correspondente.

Foi realizada a comparação por observação entre os grupos controle e usuárias de AOC, utilizando-se a variação, em percentual, das medianas das densidades minerais ósseas determinada aos 12 meses de seguimento em relação ao momento zero.

4 Artigo Científico

Effect of Low- Dose Combined Oral Contraceptives on Bone Mineral Density in Adolescents over a one year period

Talita P. BIASON, Tamara L. B. Goldberg, Maria R. Moretto, Cristina M. T. Fortes, Cilmary S. Kurokawa, Altamir S. Teixeira, Hélio R. C. Nunes

Abstract

Background: Low dose combined oral contraceptives (COC) can interfere in bone mass acquisition during adolescence.

Subjects and Methods: A non-randomized parallel control study with one year follow-up. Sixty-seven adolescents from 12 to 20 years of age, divided into COC users (n=41) taking 20µg EE / 150µg Desogestrel and non-user controls (n=26), were followed with bone densitometry examinations.

Results: COC users presented low bone mass acquisition in the lumbar spine BMD and BMC median variation percentages between initial and final moments (+2.07% and +1.57% respectively) the control group presented variations (+12.16% and +16.84% respectively) over the same period. Total body BMD and BMC presented similar evolution.

Conclusion: The low COC dose analysed (EE 20µg/ Desogestrel 150µg) negatively interfered in bone mass acquisition occurring in adolescence.

Keywords: adolescent; bone density; bone mineral content; contraceptives; osteoporosis.

1 Introduction

Osteoporosis is considered an important public health problem resulting in severe consequences for sufferers, and for public health systems due to the funds destined to preventing it, and for the treatment and recovery of patients suffering it. Although this disease manifests in later life, it is during infancy and adolescence that its prevention must start because around 90% to 95% of total bone mass is acquired in this period¹⁻⁴. Inadequate bone mass acquisition at this time is one of the main determinants of later osteopenia and osteoporosis development^{1,4-5}. It is therefore recommended that bone mineral capital formation is encouraged through adequate dairy product intake and physical exercise throughout life.

As well as various other factors which influence bone accretion in adolescence, gonadal hormones, particularly oestrogen play a crucial role in bone mass acquisition. Experimental studies have shown that oestrogen reduces osteoclast formation and activity, reducing bone reabsorption, mainly through increased apoptosis. Oestrogen also seems to positively influence osteoblast formation, differentiation, proliferation, and activity stimulating bone formation⁶⁻⁸. Therefore medicines such as combined oral contraceptives (COC) which alter the physiology of the hypothalamic–pituitary–gonadal axis and consequently oestrogen levels can interfere in adolescent bone mass accrual. However one cannot discourage the use of COC's in adolescence. COC's are the second most common contraceptive method used by adolescents, the most frequent being the male condom⁹⁻¹⁰.

Some studies have investigated the consequences of COC use on Bone Mineral Density (BMD) in adolescents but results are still controversial. Gai et al.¹¹ who followed 450 adolescents between 16 and 18 years of age,

some using a COC containing 35µg ethinyl estradiol (EE), others 30µg EE, and the rest not using COC's, did not find significant differences in BMD between users and non-users after two years observation. Pikkarainen et al.¹² analysed the effect of COC's containing 20 to 35µg EE on bone mass in adolescents between 12 and 19 years old. One hundred and twenty-two adolescents were divided into non-COC users, COC users for 1 to 2 years, and COC users for more than 2 years. They found a smaller increase in bone mineral content (BMC) in the over 2 year COC users group¹². So results published in scientific literature on the influence of COC use in adolescents are fairly inconclusive and require study designs which delimit age groups, characterise similarities between users and their controls, and use the same COC formulations.

Faced with the increase in BMD that occurs in adolescence, the need for preventing osteopenia/osteoporosis and its consequences, the frequent use of COC's at this time of life, and with formulations suitable for this age group which aim to minimise the risk of thromboembolism and other adverse effects, the objective of this study is to evaluate BMD in adolescents using COC's containing 20µg EE and 150µg desogestrel, and compare them with BMD in adolescents not using them.

2 Subjects and Methods

This was a non-randomized parallel control study. Participants were followed for 12 months and data collected between 2010 and 2012. We recruited 67 healthy female volunteers between 12 and 20 incomplete years post menarche with regular menstrual cycles attending the Adolescent Medicine Outpatient Clinic at Botucatu University Hospital – UNESP. Of these, 41 had

been medically advised to use COC as a contraceptive, none had used hormonal contraceptives before, none were pregnant at the time of the study, and none had been pregnant before; they were non-smokers and non-drinkers and did not participate in extracurricular sport, but did participate in Physical Education classes in school. Heights and body mass indexes (BMI) were between the 5th and 95th percentile for their age group according to Centers for Disease Control and Prevention criteria¹³. Adolescents were excluded if they had a history of prematurity or low birth weight, had been submitted to prolonged steroid treatment or had used calcium or iron supplements in the 12 months prior to the study, or suffered diabetes mellitus, acute or chronic malnutrition, congenital or acquired bone diseases, gastrointestinal malabsorption, history of nephropathy with or without chronic renal insufficiency, endocrinopathies, early or late puberty, chronic drug consumption, cystic fibrosis, celiac disease, or even adolescents who used medication known to negatively affect bone metabolism such as anticonvulsants and antacids with aluminium. Those on an exclusively vegetarian diet or with high fibre, caffeine, or soft drink consumption, and those who did not consume dairy products every day were also not included.

The Control group consisted of 26 adolescents from the same age band with the same inclusion and exclusion criteria as the COC users but who did not use any type of hormonal contraceptive.

Blood samples were taken from COC users after six months to measure estradiol levels by Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA) using the ARCHITECT® Estradiol Kit (Abbott Laboratories, USA) which has a precision of ≤ 5 pg/ml for control concentrations in the low control range (target

45pg/mL), and $\leq 7\%$ for concentrations in the medium and high control range (target 190 and 600pg/ml, respectively).

This study was approved by the Research Ethics Committee of Botucatu School of Medicine and free informed consent was obtained from adolescents and those legally responsible for them, and their consent only when they were over 18 years old.

COC user group members were evaluated at the time of insertion in the study and 12 months after standard COC (20 μ g ethinyl estradiol / 150 μ g desogestrel) introduction. Control group members were evaluated at initial moment and 12 months later. Dietary assessment was performed for both groups at first study moment by 3-day food record to verify calcium intake and any factors which could interfere in its bioavailability. At all visits, participants were weighed and measured for height using a Filizola electronic scales accurate to 0.1Kg and a wooden height gauge with 0.1cm accuracy, and underwent general and special physical examination to detect any bone change and pubertal stage evaluation was performed according to Tanner by two professionals experienced in this function¹⁴.

Anamnesis was performed in all consultations so that any problem or inadequacy in medication use could be recorded. Bone mass was evaluated by Bone Densitometry with dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) using a Hologic QDR 4500 Discovery A apparatus (Hologic Inc., Bedford, MA, USA). Bone mass evaluation was adjusted using a pediatric software and BMC values expressed in grams (g) and BMD in g/cm². Measurements were taken of the lumbar spine region between L1-L4, the whole left proximal femur, and total body densitometry with and without the head, called subtotal whole body. All evaluations were made by just a single experienced technician who performed

the densitometry examination, and was blinded to whether adolescents were using any COC or not.

Statistical Analysis

Age, weight, height, BMI, and bone age data presented asymmetric distribution. The Mann-Whitney test was used for homogeneity evaluation of non-user (controls) and COC user groups at moment zero with a fixed 5% level of significance or corresponding p value.

Comparison by observation between Control and COC user groups used variation in median bone mineral density percentages determined 12 months after initial measurements.

3 Results

Thirty-five COC users completed the proposed follow-up and six were excluded as they opted to discontinue medication. The whole Control group (n=26) completed the follow-up period. There were no statistical differences at initial moment between groups for chronological age (CA) and bone age (BA), anthropometric variables, or variables obtained by bone densitometry (Table 1). Mean calcium ingestion was 563.21mg/day for both groups, very low values compared to recognised dietary reference intakes (DRI) values, which recommend an intake of 1300mg/day¹⁵, but close to those seen in other works developed in the country¹⁶. Mean menarche age was similar between groups and did not differ from the mean value reported for the Brazilian population, of 12.2 years¹⁷. Median time interval between menarche and moment of COC

introduction (gynaecological age) was 48 months, while median serum estradiol level after 6 months COC use was 10pg/ml.

Considering initial and final evaluation moments, height between adolescents in the COC group did not vary. Although median weight had increased ($p < 0.001$), z score and BMI percentile for these adolescents did not present statistical differences. Control group weight, height and BMI percentages did not present significant differences between initial and final moments.

The areas analysed by DXA were the lumbar spine region, the whole body, and the whole body without the cephalic region as per International Society for Clinical Densitometry recommendations, which indicates these regions as having the best accuracy in the infancy and adolescence age range¹⁸. After 12 months follow-up, COC users presented a small median variation percentages between the initial and final moments for lumbar spine BMD and BMC, +2.07% and +1.57% respectively, while the control group presented important variations of +12.16% and +16.84%, respectively. Total body BMD and BMC presented similar behaviour: in the COC group the variations were +0.84% and +1.22%, considerably lower than the control group which showed increases of +5.28% and +11.34% respectively. Subtotal whole body BMD and BMC also behaved in the same way, where variations in users were 0.56% and 1.18%, respectively and in controls were 5.28% and 16.04%, respectively. Absolute differences in variation between groups can also be seen in Table 2, with the most expressive values showing for BMC in the lumbar spine (15.27), subtotal whole body (14.86) and whole body (10.12). Statistical significance ($p < 0.05$) was seen for the percentage variations obtained between COC user and non-user groups for BMC, but not for BMD.

Table 1 - Control and COC user group characteristics at the initial moment (median, minimum, and maximum values)

| | Non COC (n=26) | | | COC Users (n=35) | | | <i>p</i> ¹ |
|-------------------------------------|----------------|----------|----------|------------------|----------|----------|-----------------------|
| | Median | Minimum | Maximum | Median | Minimum | Maximum | |
| Age (years) | 15.63 | 14.67 | 16.08 | 15.75 | 12.00 | 19.50 | 0.533 |
| Bone age (years) | 16.00 | 14.00 | 18.00 | 16.50 | 14.00 | 18.00 | 0.604 |
| Weight (Kg) | 51.90 | 42.60 | 64.70 | 52.20 | 41.00 | 73.40 | 0.839 |
| Height (m) | 1.64 | 1.51 | 1.72 | 1.59 | 1.49 | 1.67 | 0.101 |
| BMI (Kg/m ²) | 20.02 | 16.69 | 24.03 | 20.88 | 16.63 | 24.82 | 0.233 |
| Z-score for BMI | -0.08 | -1.40 | 0.94 | 0.26 | -1.93 | 1.94 | 0.255 |
| BMI (percentile) | 47.08 | 8.07 | 82.71 | 60.23 | 5.66 | 94.38 | 0.279 |
| Lumbar BMD (g/cm ²) | 0.854 | 0.761 | 1.121 | 0.959 | 0.770 | 1.094 | 0.228 |
| Lumbar BMC (g) | 46.37 | 39.90 | 76.64 | 49.82 | 37.70 | 64.80 | 0.330 |
| Total body BMD (g/cm ²) | 1.003 | 0.859 | 1.181 | 0.995 | 0.845 | 1.130 | 0.369 |
| Total body BMC (g) | 1783.62 | 1260.69 | 2473.26 | 1831.42 | 1291.25 | 2130.32 | 0.855 |
| Subtotal BMD (g/cm ²) | 0.879 | 0.753 | 1.035 | 0.874 | 0.726 | 0.950 | 0.503 |
| Subtotal BMC (g) | 1320.18 | 923.07 | 1860.11 | 1407.01 | 945.38 | 1609.56 | 0.903 |
| Total body fat (g) | 15075.80 | 9539.10 | 22160.10 | 16111.70 | 8504.00 | 25681.00 | 0.976 |
| Lean weight (g) | 33051.00 | 13852.00 | 40656.80 | 36735.60 | 29604.00 | 47615.70 | 0.016 |
| Total body fat (%) | 30.10 | 21.10 | 37.70 | 29.50 | 19.60 | 38.00 | 0.637 |

(1) Mann-Whitney test, $p < 0.05$ indicates significant differences.

Table 2 - Comparison of variations in DXA between initial moment and after 12 months between the Control group and COC users.

| Variable | Non COC | | | COC users | | | Difference ² | <i>p</i> ³ |
|----------------|---------|---------|---------------|-----------|---------|---------------|-------------------------|-----------------------|
| | Initial | Final | Variation (%) | Initial | Final | Variation (%) | | |
| Lumbar BMD | 0.854 | 0.958 | 12.16 | 0.959 | 0.949 | 2.07 | 10.09 | 0.056 |
| Lumbar BMC | 46.37 | 53.73 | 16.84 | 49.82 | 49.03 | 1.57 | 15.27 | 0.014 |
| Subtotal BMD | 0.879 | 0.903 | 5.28 | 0.874 | 0.869 | 0.56 | 4.72 | 0.149 |
| Subtotal BMC | 1320.18 | 1538.46 | 16.04 | 1407.01 | 1414.69 | 1.18 | 14.86 | 0.033 |
| Whole body BMD | 1.003 | 1.042 | 5.28 | 0.995 | 0.992 | 0.84 | 4.44 | 0.149 |
| Whole body BMC | 1783.62 | 2006.98 | 11.34 | 1831.42 | 1849.58 | 1.22 | 10.12 | 0.031 |

(1) Variation (in %) at the final moment in relation to the initial moment.

(2) Absolute difference between variations.

(3) Mann-Whitney test, $p < 0.05$ indicates significant differences

4 Discussion

Due to the importance of bone accretion during adolescence, one of the protection factors against osteopenia/osteoporosis which affects women during the menopause and senility, and the significant frequency of COC use by this age group, it has become extremely important to know what influence this medication can have on adolescent bone mass. Taking a different approach to other studies in literature, we only looked at the adolescent phase, taking great care to exclude young adults from the sample and select adolescents who did not present any other factor which was known to interfere in bone mass acquisition, for example tobacco or alcohol use. We also standardized the COC to avoid different EE doses or different progestagens.

After one year of taking low dose COC (20µg EE/150µg desogestrel), our adolescents presented small variations in BMD and BMC percentage in the lumbar spine region, while control group adolescents presented a higher percentage, which translated as the expected bone mass acquisition necessary in this stage of life. The percentage variations in BMD seen in whole and subtotal whole body were also higher in controls than COC users, but of a lower magnitude. When the same analysis was performed for BMC, the percentage variations in controls in the same studied sites were significantly greater ($p < 0.05$) than those in COC users, reinforcing the negative impact of the medication on bone mass growth. Thus adolescent COC users clearly had a smaller bone mass acquisition in the lumbar spine region, subtotal whole body, and whole body compared to the Control group. Despite not verifying significant differences between groups, in relation to BMD, for the percentage differences obtained, meaningful variations resulting from biological changes in bone mass

acquisition were seen when the groups were compared. Our findings are shared by other authors who have suggested that COC's at dosages $\leq 30\mu\text{g}$ EE can interfere in BMD and BMC evolution in adolescents, reducing normal bone accretion during this stage of life^{12,19-21}.

Recently, Cibula et al.²² followed 56 adolescents aged between 15 and 19.5 years, split into two groups using COC's with 30 and 15 μg ethinyl estradiol, both formulations associated to gestodene, and compared them with a third group formed of 28 non users. They found significantly higher lumbar spine BMD in non-users than COC users; lumbar BMD was higher in those receiving the higher EE dose. Using a single progestagen associated to different EE doses and demonstrating less bone mass acquisition in the group receiving the lower estrogen dose²², suggested that bone mass accrual was dependent on estrogen level. Our findings have also shown changes in bone mass acquisition, by lumbar spine BMD and BMC analysis, which were of an expressive magnitude in non-users and were negative in COC users; this can be explained by the presence of trabecular bone as a more important component in vertebra formation. This type of bone presents more intense remodelling and is therefore more susceptible to interventions capable of changing bone mass, as well as being known to be highly influenced by estrogen action^{20,23-24}.

The change in physiological estrogen production due to hypothalamic–pituitary–gonadal axis blockade, resulting from COC action associated to the low EE concentration found in commonly used formulations, seems to play a fundamental role in low adolescent bone accretion²⁵. Elevated estrogen levels in adolescence, which occur in girls who evolve normally during puberty, seem to be positively related to BMD increase²⁶, but during COC use adolescents

present estradiol levels compatible to the early follicular phase of the menstrual cycle, not reaching the elevated levels found in the ovulation phase²⁷⁻²⁸. The estradiol concentrations seen in our adolescent COC users confirmed these hypotheses. Literature reports that healthy adolescents at the end of puberty present mean estradiol levels of 87pg/mL in the follicular phase, reaching ovulatory values of 150 to 350pg/mL²⁹. From our evidence, we concluded that the EE provided by low dose COC's, seems insufficient for sustaining bone accretion in adolescence, while published literature shows that small doses in later, in pre and post menopause women, do promote bone mass acquisition³⁰. Experimental studies in rats have suggested that bone tissue is less sensitive to estrogen than the uterus and hypothalamic-pituitary-gonadal axis, indicating that low concentrations of estrogen may be capable of blocking the axis and maintaining uterine trophism, but are not sufficient to maintain or stimulate adequate bone mass acquisition³¹.

The significance of the progestagenic component in the influence of COC's on bone mass is still poorly understood in scientific literature^{21,25,32} due to the difficulty in discriminating between the results of direct progestagen action on the bone and the resultant effects of altering induced estrogen levels by hormonal contraception. Studies have shown that progesterone should act together with estrogen in bone accretion, optimizing peak bone mass which occurs in adolescence³³. Therefore different progestagen components in COC's could hypothetically influence adolescent BMD and BMC in different ways. The injectable progestagenic contraceptive, medroxyprogesterone acetate (MPA), for example, has a well-documented negative effect on bone mass^{32,34-35}. Among other possible action mechanisms, it has been reported to inhibit the hypothalamic-pituitary-gonadal axis resulting in a state of hypogonadism and

bonding to glucocorticoid (GC) receptors, with a reduction in osteoblast activity³⁶; however, when used in association with estrogen supplementation in adolescence, bone mass reduction is minimised³⁷. Thus, low bone acquisition which occurs during COC use in adolescence seems to be due to the use of low EE doses³⁸, however, no evidence has been found in scientific literature about how much and how the progestagen in the formulation can influence bone metabolism.

The clinical relevance of ascertaining low bone accretion in adolescent COC users is still under debate. It has been said that the risk of fractures in COC users during the second decade of life does not seem higher than in non-users³⁹, however until now, studies are unable to say what will happen in these adolescents when they reach senility or if there will be a reversal of the process of not reaching the expected maximum bone mass during adolescence. Thus the possible future consequences of low bone mass acquisition in adolescent COC users during the critical period of peak bone mass development still remains an unanswered question.

Considering the importance of hormonal contraception in adolescence as form of preventing unplanned pregnancies, new studies are needed to establish which estrogenic and progestagenic components and at what doses they would be safe and adequate in respect of bone mass acquisition in this age group, favouring the complete development of bone mineral capital, a protection factor against osteopenia/osteoporosis in later life.

5 References

- 1 Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, et al. Peak bone mass. *Osteoporos Int* 2000; 11:985-1009.
- 2 Leonard MB, Zemel BS. Current concepts in pediatric bone disease. *Pediatr Clin North Am* 2002; 49:143-73.
- 3 Riggs BL, Khosla S, Melton LJ 3rd. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 2002; 23:279-302.
- 4 Rizzoli R, Bianchi ML, Garabédian M, et al. Maximizing bone mineral mass gain during growth for the prevention of fractures in the adolescents and the elderly. *Bone* 2010; 46:294-305.
- 5 Saggese G, Baroncelli GI, Bertelloni S. Osteoporosis in children and adolescents: diagnosis, risk factors, and prevention. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001; 14:833-59.
- 6 Chow J, Tobias JH, Colston KW, et al. Estrogen maintains trabecular bone volume in rats not only by suppression of bone resorption but also by stimulation of bone formation. *J Clin Invest* 1992; 89:74-8.
- 7 Hughes DE, Dai A, Tiffée JC, et al. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF-beta. *Nat Med* 1996; 2:1132-6.
- 8 Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 2000; 21:115-37.
- 9 Ferreira ML, Galvão MTG, Costa ES. Sexualidade da adolescente: anticoncepção. *Rev Bras Med* 2000; 57: 8-15.
- 10 Abramovay M, Castro MG, Silva LB. *Juventudes e sexualidade*. Brasília (DF): UNESCO; 2004. 428p.

- 11 Gai L, Jia Y, Zhang M, et al. Effect of two kinds of different combined oral contraceptives use on bone mineral density in adolescent women. *Contraception* 2012; 86:332-6.
- 12 Pikkarainen E, Lehtonen-Veromaa M, Möttönen T, et al. Estrogen-progestin contraceptive use during adolescence prevents bone mass acquisition: a 4-year follow-up study. *Contraception* 2008; 78:226-31.
- 13 Kuczmarski RJ, Ogden CL, Guo SS, et al. 2000 CDC Growth Charts for the United States: methods and development. *Vital Health Stat* 11 2002; (246):1-190.
- 14 Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969; 44:291-303.
- 15 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*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. [on line]. [Acess 20 ago 2012]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/>
- 16 Moretto MR, Silva CC, Kurokawa CS, 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.
- 17 Colli AS. Crescimento e desenvolvimento físico. In: São Paulo (Estado). Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Comissão de Saúde do Adolescente. *Adolescência e saúde*. São Paulo: Paris Editorial, 1988. p.43-57.
- 18 Gordon CM, Bachrach LK, Carpenter TO, et al. Dual energy X-ray absorptiometry interpretation and reporting in children and adolescents: the 2007 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom* 2008; 11:43-58.

- 19 Polatti F, Perotti F, Filippa N, et al. Bone mass and long-term monophasic oral contraceptive treatment in young women. *Contraception* 1995; 51:221-4.
- 20 Almstedt Shoepe H, Snow CM. Oral contraceptive use in young women is associated with lower bone mineral density than that of controls. *Osteoporos Int* 2005; 16:1538-44.
- 21 Hartard M, Kleinmond C, Wiseman M, et al. Detrimental effect of oral contraceptives on parameters of bone mass and geometry in a cohort of 248 young women. *Bone* 2007; 40:444-50.
- 22 Cibula D, Skrenkova J, Hill M, et al. Low-dose estrogen combined oral contraceptives may negatively influence physiological bone mineral density acquisition during adolescence. *Eur J Endocrinol* 2012; 166:1003-11.
- 23 van der Sluis IM, de Muinck Keizer-Schrama SM. Osteoporosis in childhood: bone density of children in health and disease. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001; 14:817-32.
- 24 Lash RW, Nicholson JM, Velez L, et al. Diagnosis and management of osteoporosis. *Prim Care* 2009; 36:181-98, x.
- 25 Agostinho K, Di Meglio G. Low-dose oral contraceptives in adolescents: how low can you go? *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2010; 23:195-201.
- 26 Wang Q, Nicholson PH, Suuriniemi M, et al. Relationship of sex hormones to bone geometric properties and mineral density in early pubertal girls. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:1698-703.
- 27 Gaspard UJ, Romus MA, Gillain D, et al. Plasma hormone levels in women receiving new oral contraceptives containing ethinyl estradiol plus levonorgestrel or desogestrel. *Contraception* 1983; 27:577-90.

- 28 Lattakova M, Borovsky M, Payer J, et al. Oral contraception usage in relation to bone mineral density and bone turnover in adolescent girls. *Eur J Contracept Reprod Health Care* 2009; 14:207-14.
- 29 Finkelstein JW. The endocrinology of adolescence. *Pediatr Clin North Am* 1980; 27:53-69.
- 30 Martins SL, Curtis KM, Glasier AF. Combined hormonal contraception and bone health: a systematic review. *Contraception* 2006; 73:445-69.
- 31 Erben RG, Brunner KS, Breig B. Long-term sensitivity of uterus and hypothalamus/pituitary axis to 17beta-estradiol is higher than that of bone in rats. *J Bone Miner Res* 2004; 19:1827-32.
- 32 Walsh JS, Eastell R, Peel NF. Effects of Depot medroxyprogesterone acetate on bone density and bone metabolism before and after peak bone mass: a case-control study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:1317-23.
- 33 Seifert-Klauss V, Prior JC. Progesterone and bone: actions promoting bone health in women. *J Osteoporos* 2010; 2010:845180.
- 34 Curtis KM, Martins SL. Progestogen-only contraception and bone mineral density: a systematic review. *Contraception* 2006; 73:470-87.
- 35 Kanis JA on behalf of the World Health Organization Scientific Group. Assessment of osteoporosis at the primary health-care level. Technical Report. World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK. 2007: Printed by the University of Sheffield. [on line]. [Access 20 nov 2012]. Available from: http://www.shef.ac.uk/FRAX/pdfs/WHO_Technical_Report.pdf
- 36 Ishida Y, Ishida Y, Heersche JN. Pharmacologic doses of medroxyprogesterone may cause bone loss through glucocorticoid activity: an hypothesis. *Osteoporos Int* 2002; 13:601-5.

- 37 Cromer BA, Lazebnik R, Rome E, et al. Double-blinded randomized controlled trial of estrogen supplementation in adolescent girls who receive depot medroxyprogesterone acetate for contraception. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192:42-7.
- 38 Nappi C, Bifulco G, Tommaselli GA, et al. Hormonal contraception and bone metabolism: a systematic review. *Contraception* 2012; 86:606-21.
- 39 Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Fracture risk in very young women using combined oral contraceptives. *Contraception* 2008; 78:358-64.

5 Conclusão

O AOC de baixa dosagem contendo 20 µg de EE e 150 µg de desogestrel, quando utilizado na adolescência, por um período de um ano, mostrou-se capaz de interferir negativamente sobre o incremento ósseo que seria habitualmente previsto de ocorrer nessa faixa etária, como evidenciado na comparação com as adolescentes controles.

6 Considerações

A alteração da fisiologia do eixo hipotálamo-hipófise-gônada e, conseqüentemente, dos níveis de estrôgenio endógeno, resultante da ação do AOC contendo dosagem de EE de 20 µg em sua formulação, sugerem não ter sido suficientes para sustentar a aquisição óssea habitual dessa fase da vida, uma das fases mais importantes para o acúmulo ósseo, segundo estudos nacionais e internacionais envolvendo adolescentes saudáveis.

Diante dessas constatações, o desenvolvimento de novos estudos tornam-se necessários para esclarecer hipóteses que sejam formuladas sobre a confirmação da interferência do AOC de baixa dosagem sobre o acréscimo de massa óssea na adolescência.

Conjectura-se, seriam essas alterações reversíveis em tempo posterior à interrupção do uso desse medicamento? O uso prolongado ocasionaria acometimentos de maior intensidade?

Torna-se pois, necessário determinar a relevância clínica do menor incremento ósseo observado entre essas adolescentes quando atingirem a época da menopausa ou senilidade, momentos em que ocorrem as manifestações da osteopenia/osteoporose e das fraturas delas resultantes, supondo-se o quanto esse acometimento possa colaborar na constatação desses eventos.

7 Referências Bibliográficas

Abramovay M, Castro MG, Silva MB. Juventudes e sexualidade. Brasília: UNESCO; 2004. 426p.

Agostino H, Di Meglio G. Low-dose oral contraceptives in adolescents: how low can you go? *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2010; 23(4):195-201.

Almstedt Shoepe H, Snow CM. Oral contraceptive use in young women is associated with lower bone mineral density than that of controls. *Osteoporos Int* 2005; 16(12):1538-44.

Bailey DA, Martin AD, McKay HA, Whiting S, Mirwald R. Calcium accretion in girls and boys during puberty: a longitudinal analysis. *J Bone Miner Res* 2000; 15(11):2245-50.

Bonjour JP, Chevalley T, Ferrari S, Rizzoli R. The importance and relevance of peak bone mass in the prevalence of osteoporosis. *Salud Publica Mex* 2009; 51(Suppl 1):S5-17.

Boot AM, de Ridder MA, van der Sluis IM, van Slobbe I, Krenning EP, Keizer-Schrama SM. Peak bone mineral density, lean body mass and fractures. *Bone* 2010; 46(2):336-41.

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.

Camargo MB, Cendoroglo MS, Ramos LR, de Oliveira Latorre MR, Saraiva GL, et al. Bone mineral density and osteoporosis among a predominantly Caucasian elderly population in the city of São Paulo, Brazil. *Osteoporos Int* 2005; 16(11):1451-60.

Campos LMA, Liphaut BL, Silva CAA, Pereira RMR. Osteoporose na infância e adolescência. *J Pediatr (Rio J)* 2003; 79(6):481-8.

Cassidy JT. Osteopenia and osteoporosis in children. Clin Exp Rheumatol 1999; 17(2):245-50.

Chow J, Tobias JH, Colston KW, Chambers TJ. Estrogen maintains trabecular bone volume in rats not only by suppression of bone resorption but also by stimulation of bone formation. J Clin Invest 1992; 89(1):74-8.

Cibula D, Skrenkova J, Hill M, Stepan JJ. Low-dose estrogen combined oral contraceptives may negatively influence physiological bone mineral density acquisition during adolescence. Eur J Endocrinol 2012; 166(6):1003-11.

Cintra IP, von Der Heydy MED, Schitz BAS, Francheschini SCC, Taddei JAAC, Sigulen DM. Métodos de inquéritos dietéticos. Cad Nutr 1997; 13(2):11-23.

Christo K, Prabhakaran R, Lamparello B, Cord J, Miller KK, Goldstein MA, et al. Bone metabolism in adolescent athletes with amenorrhea, athletes with eumenorrhea, and control subjects. Pediatrics 2008; 121(6):1127-36.

Colin EM, van den Bemd GJ, van Aken M, Christakos S, de Jonge HR, DeLuca HF, et al. Evidence for involvement of 17beta-estradiol in intestinal calcium absorption independent of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ level in the rat. J Bone Miner Res 1999; 14(1):57-64.

Colli AS. Crescimento e desenvolvimento físico. In: São Paulo (Estado). Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Comissão de Saúde do Adolescente. Adolescência e saúde. São Paulo: Paris Editorial, 1988. p.43-57.

Cotter AA, Cashman KD. Effect of 17betaoestradiol on transepithelial calcium transport in human intestinal-like Caco-2 cells and its interactions with 1,25-dihydroxycholecalciferol and 9-cis retinoic acid. Eur J Nutr 2006; 45(4):234-41.

Cromer BA, Lazebnik R, Rome E, Stager M, Bonny A, Ziegler J, et al. Double-blinded randomized controlled trial of estrogen supplementation in adolescent girls who receive depot medroxyprogesterone acetate for contraception. Am J Obstet Gynecol 2005; 192(1):42-7.

Cundy T, Evans M, Roberts H, Wattie D, Ames R, Reid IR. Bone density in women receiving depot medroxyprogesterone acetate for contraception. *BMJ* 1991; 303(6796):13-6.

Curtis KM, Martins SL. Progestogen-only contraception and bone mineral density: a systematic review. *Contraception* 2006; 73(5):470-87.

d'Arcangues C. WHO statement on hormonal contraception and bone health. *Contraception* 2006; 73(5):443-4.

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

Dhont M. History of oral contraception. *Eur J Contracept Reprod Health Care* 2010; 15 (Suppl 2):S12-8.

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.

Erben RG, Brunner KS, Breig B. Long-term sensitivity of uterus and hypothalamus/pituitary axis to 17beta-estradiol is higher than that of bone in rats. *J Bone Miner Res* 2004; 19(11):1827-32.

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

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

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(4):332-6.

Gaspard UJ, Romus MA, Gillain D, Duvivier J, Demey-Ponsart E, Franchimont P. Plasma hormone levels in women receiving new oral contraceptives containing ethinyl estradiol plus levonorgestrel or desogestrel. *Contraception* 1983; 27(6):577-90.

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 Paediatrica* 2009; 98(Suppl. S460):146. (50th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Research 2009 October 9-12; Hamburg).

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.

Greulich W, Pyle S. Radiographic atlas of skeletal development of hand and wrist. 2nd ed. Stanford: Stanford University Press, 1959. 256p.

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

Hartard M, Kleinmond C, Wiserman M, Weissenbacher ER, Felsenberg D, Erben RG. Detrimental effect of oral contraceptives on parameters of bone mass and geometry in a cohort of 248 young women. *Bone* 2007; 40(2):444-50.

Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Marcus R, Matkovic V, et al. Peak bone mass. *Osteoporos Int* 2000; 11(12):985-1009.

Herrmann M, Seibel MJ. The effects of hormonal contraceptives on bone turnover markers and bone health. *Clin Endocrinol (Oxford)* 2010; 72(5):571-83.

Hughes DE, Dai A, Tiffée JC, et al. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF-beta. *Nat Med* 1996; 2:1132-6.

Jelliffe DB. Evaluación del estado de nutrición de la comunidad: con especial referencia a las encuestas en las regiones en desarrollo. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 1968. 291p.

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. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. [on line]. [Access 20 ago 2012]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/>

Ishida Y, Ishida Y, Heersche JN. Pharmacologic doses of medroxyprogesterone may cause bone loss through glucocorticoid activity: an hypothesis. *Osteoporos Int* 2002; 13(8):601-5.

Johnell O, Kanis J. Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 2005, 16 (Suppl 2):S3-7.

Jolly MC, Sebrine N, Harris J, Robinson S, Regan L. Obstetric risks of pregnancy in woman less than 18 years old. *Obstet Gynecol* 2000; 96(6): 962-6.

Kanis JA on behalf of the World Health Organization Scientific Group. Assessment of osteoporosis at the primary health-care level. Technical Report. World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK. 2007: Printed by the University of Sheffield. [on line]. [Access 20 nov 2012]. Available from: http://www.shef.ac.uk/FRAX/pdfs/WHO_Technical_Report.pdf

Kiley J, Hammond C. Combined oral contraceptives: a comprehensive review. *Clin Obstet Gynecol* 2007; 50(4):868-77.

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* 11 2002; (246):1-190.

Kusec V, Virdi AS, Prince R, Triffitt JT. Localization of estrogen receptor-alpha in human and rabbit skeletal tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 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, x.

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 Contracept Reprod Health Care* 2009; 14(3):207-14.

Leonard MB, Zemel BS. Current concepts in pediatric bone disease. *Pediatr Clin North Am* 2002; 49(1):143-73.

Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 2000; 21(2):115-37.

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

Martins SL, Curtis KM, Glasier AF. Combined hormonal contraception and bone health: a systematic review. *Contraception* 2006; 73(5):445-69.

McCormick RK. Osteoporosis: integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility. *Altern Med Rev* 2007; 12(2):113-45.

Ministério da Saúde. DATASUS. Sistema de informações de nascidos vivos – SINASC. [on line]. [Acesso 10 ago 2012]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=21379.

Moretto MR, Silva CC, Kurokawa CS, Fortes CM, Capela RC, Teixeira AS, 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.

Nappi C, Bifulco G, Tommaselli GA, Gargano V, Di Carlo C. Hormonal contraception and bone metabolism: a systematic review. *Contraception* 2012; 86(6):606-21.

Nebesio TD, Eugster EA. Current concepts in normal and abnormal puberty. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2007; 37(2):50-72.

Ojeda SR, Lomniczi A, Mastronardi C, Heger S, Roth C, Parent AS, et al. Minireview: the neuroendocrine regulation of puberty: is the time ripe for a systems biology approach? *Endocrinology* 2006; 147(3):1166-74.

Philippi ST, Szarfarc SC, Iatrza AR. Virtual Nutri [programa computador]. Versão 1.0 for Windows 1996.

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(3):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(4):221-4.

Riggs BL, Khosla S, Melton LJ 3rd. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 2002; 23(3):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(2):294-305.

Saggese G, Baroncelli GI, Bertelloni S. Osteoporosis in children and adolescents: diagnosis, risk factors, and prevention. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001; 14(7):833-59.

Scholes D, LaCroix AZ, Ichikawa LE, Barlow WE, Ott SM. Change in bone mineral density among adolescent women using and discontinuing depot medroxyprogesterone acetate contraception. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2005; 159(2):139-44.

Seifert-Klauss V, Prior JC. Progesterone and bone: actions promoting bone health in women. *J Osteoporos* 2010; 2010:845180.

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.

Smith EP, Boyd J, Frank GR, Takahashi H, Cohen RM, Specker B, et al. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med* 1994; 331(16):1056-61.

Tolaymat LL, Kauunitz AM. Use of hormonal contraception in adolescents: skeletal health issues. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2009; 21(5):396-401.

van Abel M, Hoenderop JG, van der Kemp AW, van Leeuwen JP, Bindels RJ. Regulation of the epithelial Ca²⁺ channels in small intestine as studied by quantitative mRNA detection. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285(1):G78-G85.

van der Sluis IM, Muinck Keizer-Schrama SMPF. Osteoporosis in childhood: bone density in children in health and disease. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001; 14(7):817-32.

Vargas DM, Rigotti T, Gütz CNRM, Lobe MCS, Fernandes JA. Mineralização óssea em crianças com diabetes melito tipo1. *J Pediatr (Rio J)* 2003; 79(3):253-7.

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.

Walsh JS, Eastell R, Peel NF. Effects of Depot medroxyprogesterone acetate on bone density and bone metabolism before and after peak bone mass: a case-control study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(4):1317-23.

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.

World Health Organization. Young People's Health - a Challenge for Society. Report of a WHO Study Group on Young People and Health for All. Technical Report Series 731. Geneva: WHO; 1986. [Technical Report Serie 731].

World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. Geneva, World Health Organization, 1994 (WHO Technical Report Series, nº 843).

8 Anexos

8.1 TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, Talita Poli Biason, professora substituta do departamento de pediatria , convido-a para participar da seguinte pesquisa científica:

I – DADOS SOBRE A PESQUISA:

| | | |
|--|---------------------------------------|--|
| 1 Título da pesquisa: Densidade Mineral Óssea e Marcadores Bioquímicos de Formação e Reabsorção Óssea em Adolescentes Usuárias de Anticoncepcional Oral Combinado | | |
| 2. Pesquisador responsável: Talita Poli Biason Orientadora: Profa. Dra. Tamara Beres Lederer Goldberg, docente do Departamento de Pediatria e responsável pelo Ambulatório de Medicina do Adolescente da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP. | | |
| Cargo/função: Professora Substituta do Depto de Pediatria | Inscr.Cons.Regional Medicina: 101.959 | Unidade ou Departamento do Solicitante: Depto de Pediatria |
| 3. Justificativa e os objetivos da pesquisa: O presente trabalho se justifica por meio das seguintes constatações: 1) embora existam alguns estudos nacionais, dos quais pelo menos dez realizados por pesquisadores da Faculdade de Medicina de Botucatu, e internacionais, para avaliar a massa óssea em indivíduos saudáveis durante a segunda década de vida, são poucas as investigações que pesquisaram a densidade mineral óssea de adolescentes usuárias de anticoncepcional oral combinado, principalmente entre pacientes do nosso meio. 2) Em relação a estes poucos estudos realizados, obtidos através de revisão da literatura, observa-se a falta de padronização do anticoncepcional prescrito, da avaliação precisa dos eventos da puberdade e da caracterização da maturidade esquelética. São raros, ainda, os trabalhos que correlacionam o exame de Densitometria Óssea (DXA) e os marcadores bioquímicos de remodelação óssea. 3) as avaliações relativas à massa óssea serão obtidas pelo exame chamado de Densitometria Óssea (DXA). Pretende-se com a avaliação da Densidade Mineral Óssea (DMO) utilizando o exame de Densitometria Óssea de coluna, fêmur proximal e corpo total esclarecer o possível efeito do anticoncepcional oral combinado sobre o ganho de massa óssea em adolescentes de 10 a 20 anos incompletos de idade. OBJETIVOS 1. Avaliar a densidade mineral óssea de adolescentes do sexo feminino de 10 a 20 anos incompletos usuárias de anticoncepcional oral combinado; 2. Realizar, interpretar e correlacionar: as avaliações antropométricas, as avaliações dos caracteres sexuais secundários, as idades ósseas através de radiografia da mão e punho, os exames de Densitometria Óssea para avaliação da massa óssea, os inquéritos e consumo alimentar, os marcadores bioquímicos de remodelação óssea destas adolescentes; 3. Investigar o impacto do uso do anticoncepcional oral combinado sobre a mineralização óssea das adolescentes. | | |

Pesquisadora: Talita Poli Biason. Av. Dona Helena P. de Moraes, 415, apto 193 – Panamby – Cep. 05707400. São Paulo – SP. Fone: (11) 3628.2451. E-mail: talitapoli@uol.com.br. Orientadora: Dra. Tamara Beres Lederer Goldberg. Faculdade de Medicina de Botucatu – Departamento de Pediatria. Distrito de Rubião Junior – Cep. 18618970. Botucatu – SP. Caixa postal: 530. Fone: (14) 3811.6274. Fax: (14) 3811.6083. E-mail: tamara@fmb.unesp.br. Site www.fmb.unesp.br

4. Procedimentos que serão utilizados:

Avaliação Corporal: serão medidos o peso e a altura das adolescentes. Estes dados serão utilizados para fazer o cálculo do IMC (índice de massa corporal) classificando-as de acordo com seu peso e altura em: baixo peso, normal, com sobrepeso ou obesos. Será realizado também exame geral e específico das adolescentes, para que qualquer alteração física possa ser encontrada aplicando o exame de avaliação dos caracteres sexuais secundários como: desenvolvimento das mamas e dos pêlos pubianos. Este exame será realizado por um profissional médico especializado. Radiografia de Mão e Punho: será feita para avaliar a idade óssea (IO) das adolescentes e o seu grau de maturação esquelética através de um Rx do punho. Avaliação da Densidade Mineral Óssea: as adolescentes que cumprirem todas as etapas anteriores farão uma avaliação da quantidade de massa óssea através de um exame chamado Densitometria Óssea, onde serão observadas as regiões da coluna lombar, das pernas (osso do fêmur total) e corpo total. Ressalta-se que a quantidade de radiação a que os adolescentes serão expostos são consideradas seguras e sem prejuízo para sua saúde atual e futura. Estes exames (Idade óssea e Densitometria Óssea) serão realizados na Clínica Tomocentro, uma vez que o Prof^o responsável pela clínica faz parte da equipe de pesquisa que desenvolverá este projeto. Inquérito Alimentar: a avaliação alimentar será realizada por meio do registro alimentar de 3 dias. Este será entregue na primeira consulta. Serão fornecidas explicações e detalhes do preenchimento do registro nesta oportunidade, incluindo a necessidade do preenchimento do mesmo em dias alternados, ou seja, o adolescente deverá recordar o que comeu durante dois dias durante a semana e um dia da alimentação do fim de semana, irão anotar todos os alimentos e preparações consumidas, na forma de medidas caseiras, colocando a marca do produto, quando possível. Isto tudo para descobrir a quantidade de energia (kcal), carboidratos (açúcar), proteínas, gorduras e cálcio (mg) presentes na alimentação diária. Coleta de sangue: serão coletados 10 mL de sangue total com agulhas descartáveis e sistema de coleta a vácuo por profissional treinada, lotada no Laboratório Experimental da Pediatria do Hospital das Clínicas de Botucatu, após avaliação médica, durante o período de 8:00 às 9:00h, após jejum noturno de pelo menos dez horas, para observação dos marcadores de remodelação óssea em soro.

5. Desconfortos e riscos esperados:

Para que participem deste trabalho, os adolescentes e seus responsáveis serão voluntários e os interessados assinarão o termo de consentimento livre e esclarecido, uma vez estando cientes do conteúdo do projeto, de seus benefícios à sua saúde e sabendo que se retirarem seu consentimento para esta participação, não sofrerão qualquer prejuízo em seu acompanhamento de saúde. Todos os procedimentos serão realizados em horários que não conflitem com seu período de frequência à atividade escolar. Como já apresentado detalhadamente em outros Projetos aprovados pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP), desde 2002, os exames em questão: idade óssea e DXA, não ocasionam qualquer desconforto. Quanto à coleta sanguínea, existe um pequeno desconforto, porém a profissional que a realizará tem experiência e saberá como contornar a situação.

6. Benefícios que poderão ser obtidos:

Os benefícios estão relacionados aos conhecimentos obtidos pela pesquisa, uma vez que quase que de imediato os adolescentes e seus responsáveis ficarão cientes sobre os resultados de sua avaliação óssea, recebendo de forma gratuita os resultados da idade óssea, da Densitometria Óssea que expressarão a qualidade atual e as possibilidades futuras do ganho de massa óssea.

7. Métodos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo:

Não há outros procedimentos alternativos que possam avaliar o conteúdo mineral ósseo, bem como a perda de massa óssea.

8. Duração da pesquisa: 2 anos após a aprovação do comitê de ética

Pesquisadora: Talita Poli Biazon. Av. Dona Helena P. de Moraes, 415, apto 193 – Panamby – Cep. 05707400. São Paulo – SP. Fone: (11) 3628.2451. E-mail: talitapoli@uol.com.br. Orientadora: Dra. Tamara Beres Lederer Goldberg. Faculdade de Medicina de Botucatu – Departamento de Pediatria. Distrito de Rubião Junior – Cep. 18618970. Botucatu – SP. Caixa postal: 530. Fone: (14) 3811.6274. Fax: (14) 3811.6083. E-mail: tamara@fmb.unesp.br. Site www.fmb.unesp.br

CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

- Ficaram claros para mim quais os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes.
- Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas.
- Recebi esclarecimentos sobre a liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuação de meu tratamento.
- Recebi esclarecimento sobre o compromisso de que minha identificação se manterá confidencial tanto quanto a informação relacionada com a minha privacidade.
- Recebi esclarecimento sobre o material coletado (sangue para marcadores bioquímicos) que poderá ser reutilizado em futuras pesquisas, mas para isso será apresentando ao CEP um novo projeto de pesquisa com um novo termo de consentimento livre e esclarecido.
- Recebi esclarecimento sobre a disponibilidade de assistência no caso de complicações e danos decorrentes da pesquisa.
- Recebi esclarecimento de que este documento após a aprovação do CEP será elaborado em 2 vias, sendo 1 entregue á mim e o outro será mantido em arquivo pelo pesquisador. Assim, concordo voluntariamente em participar deste estudo e declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido para participação neste estudo.

_____, ____ de ____ de ____
Assinatura do Adolescente Local e data

Assinatura do Responsável pelo Adolescente

Assinatura do Pesquisador

8.2 Caracterização Dietética

CARACTERIZAÇÃO DIETÉTICA

FICHA DE IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____

Data de Nascimento: _____

Medicamento (Diário): _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Informações:

- Coloque todos os alimentos consumidos e as bebidas durante o dia todo do registro. Colocar as **quantidades** por ex. Leite desnatado – 1 copo de requeijão (150ml).
- Atenção especial para os alimentos lácteos (leite, iogurtes, queijos, requeijão, sorvete, coalhadas, entre outros);
- Descreva se os alimentos e/ou bebidas são light, diet, marcas do produto, desnatado, semi-desnatado, enriquecidos com fibras, vitaminas e minerais.
- Serão 3 registros: 2 da alimentação da semana (seg a sexta) e 1 do fim de semana (sábado ou domingo).

Dúvidas entrar em contato com:

Talita Poli Biason

Fone: (11) 3062-8668

e-mail:talitapoli@uol.com.br

REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS – DIA 1 (SEGUNDA-SEXTA)

Dia 1 – Nome: _____

Dia da semana: _____ Data: _____

| Refeições e Horários | Alimentos e/ou Preparações Quantidades/ Medida Caseira |
|---------------------------------|---|
| Café da Manhã | |
| Lanche da Manhã | |
| Almoço | |
| Lanche da Tarde | |
| Jantar | |
| Ceia | |

REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS – DIA 2 (SEGUNDA-SEXTA)

Dia 2 – Nome: _____

Dia da semana: _____ Data: _____

| Refeições e Horários | Alimentos e/ou Preparações Quantidades/ Medida Caseira |
|---------------------------------|---|
| Café da Manhã | |
| Lanche da Manhã | |
| Almoço | |
| Lanche da Tarde | |
| Jantar | |
| Ceia | |

REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS – DIA 3 (SÁBADO OU DOMINGO)

Dia 3 – Nome: _____

Fim de Semana (Dia): _____ Data: _____

| Refeições e Horários | Alimentos e/ou Preparações Quantidades/ Medida Caseira |
|---------------------------------|---|
| Café da Manhã | |
| Lanche da Manhã | |
| Almoço | |
| Lanche da Tarde | |
| Jantar | |
| Ceia | |

8.3 Tabelas

8.3.1 Comparação entre os momentos iniciais, 6 e 12 meses de seguimento das adolescentes usuárias de AOC.

| Variável | Primeira avaliação (Inicial) | | | Segunda avaliação (6 meses) | | | Terceira avaliação (12 meses) | | | p |
|--------------------------------------|------------------------------|----------|----------|-----------------------------|----------|----------|-------------------------------|----------|----------|---------|
| | Mediana | Mín. | Máx. | Mediana | Mín. | Máx. | Mediana | Mín. | Máx. | |
| Idade (anos) | 15,75 a | 11,75 | 19,50 | 16,25 b | 12,16 | 20,16 | 16,75 c | 12,75 | 20,41 | < 0,001 |
| Peso (Kg) | 52,20 a | 41,00 | 73,40 | 53,60 b | 42,00 | 80,50 | 54,25 b | 39,80 | 90,00 | < 0,001 |
| Idade óssea (anos) | 16,50 | 14,00 | 18,00 | --- | --- | --- | 17,00 | 15,00 | 18,00 | --- |
| Estatura (m) | 1,59 | 1,49 | 1,67 | 1,60 | 1,48 | 1,67 | 1,58 | 1,49 | 1,68 | 0,082 |
| IMC (Kg/m ²) | 20,88 a | 16,63 | 27,82 | 21,84 b | 17,12 | 29,93 | 22,99 b | 17,86 | 31,89 | < 0,001 |
| Z- escore IMC | 0,26 | -1,93 | 1,94 | 0,51 | -2,09 | 2,07 | 0,62 | -1,97 | 1,97 | 0,125 |
| IMC (percentil) | 60,23 | 2,66 | 94,38 | 69,50 | 6,60 | 98,09 | 73,22 | 2,42 | 97,55 | 0,104 |
| DMO lombar (g/cm ²) | 0,959 a | 0,770 | 1,094 | 0,969 b | 0,776 | 1,099 | 0,949 ab | 0,798 | 1,091 | 0,013 |
| CMO lombar (g) | 49,82 | 37,70 | 64,80 | 48,74 | 37,63 | 65,87 | 49,03 | 34,07 | 65,49 | 0,352 |
| Z-escore lombar | -0,10 | -2,10 | 1,90 | -0,15 | -2,20 | 2,00 | -0,40 | -1,80 | 2,00 | 0,081 |
| DMO fêmur (g/cm ²) | 0,910 a | 0,608 | 1,062 | 0,929 b | 0,632 | 1,090 | 0,941 b | 0,707 | 1,1119 | < 0,001 |
| CMO fêmur (g) | 30,99 a | 16,67 | 44,68 | 31,62 ab | 18,39 | 44,68 | 32,98 b | 23,47 | 42,26 | 0,022 |
| Z-escore fêmur | -0,30 | -2,60 | 2,10 | -0,25 | -2,80 | 2,20 | -0,20 | -2,00 | 2,00 | 0,168 |
| DMO corpo total (g/cm ²) | 0,995 | 0,845 | 1,130 | 0,991 | 0,853 | 1,108 | 0,992 | 0,864 | 1,144 | 0,216 |
| CMO corpo total (g) | 1831,42 a | 1291,25 | 2130,32 | 1822,57 a | 1359,18 | 2177,71 | 1849,58 b | 1360,21 | 2220,99 | 0,016 |
| Z- escore corpo total | -1,10 a | -2,50 | 1,80 | -1,20 b | -2,40 | 1,30 | -1,35 b | -2,30 | 0,90 | 0,001 |
| DMO subtotal (g/cm ²) | 0,874 | 0,726 | 0,950 | 0,866 | 0,723 | 0,931 | 0,869 | 0,730 | 0,938 | 0,279 |
| CMO subtotal (g) | 1407,01 | 945,38 | 1609,56 | 1412,08 | 975,65 | 1648,95 | 1414,69 | 995,05 | 1678,29 | 0,483 |
| Gordura corporal total (g) | 16288,00 a | 8504,00 | 25681,00 | 16209,70 b | 7991,50 | 30329,90 | 17270,35 b | 8940,40 | 34651,30 | < 0,001 |
| Massa magra total (g) | 36735,60 a | 29604,00 | 47615,70 | 36807,60 ab | 30137,90 | 49949,10 | 36824,90 b | 28945,30 | 53000,10 | 0,004 |
| Gordura corporal total (%) | 29,50 a | 19,60 | 38,00 | 31,10 b | 18,80 | 39,20 | 31,80 b | 20,30 | 39,60 | < 0,001 |





(1) Friedman para amostras dependentes. Letras diferentes indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de de Dunn para comparações múltiplas.

8.3.2 Estradiol sérico das adolescentes pertencentes ao grupo de usuárias de AOC, após 6 meses da introdução de EE 20 µg / desogestrel 150 µg

| Grupo AOC | mediana | mínimo | máximo | mediana | desvio padrão |
|------------------|----------------|---------------|---------------|----------------|----------------------|
| nº | | | | | |
| 35 | <10,00 | <10,00 | 53,00 | 20,33 | 16,33 |

8.3.3 Documentação

Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e Justificativa de mudança de título de projeto de pesquisa

| | |
|---|---|
|  Universidade Estadual Paulista Faculdade de Medicina de Botucatu |  |
| Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu – S.P. CEP: 18.618-970 Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143 e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br |  Registrado no Ministério da Saúde em 30 de abril de 1997 |
| Botucatu, 01 de março de 2.010 | OF. 050/2010-CEP |
| Ilustríssima Senhora Prof.ª Dr.ª Tamara Beres Lederer Goldberg Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu | |
| Prezada Dr.ª Tamara, | |
| De ordem do Senhor Coordenador deste CEP, informo que Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 3444-2010) "Densidade mineral óssea e marcadores bioquímicos de formação e reabsorção óssea em adolescentes usuárias de anticoncepcional oral combinado" , a ser conduzido por Talita Poli Biason, orientada por Vossa Senhoria, com a colaboração de Altamir Santos Teixeira, Carla Cristiane da Silva, Cilmary Suemi Kurokawa, José Carlos Dalmas, Luciana Nunes Mosca, Maria Regina Moretto de Oliveira e Renata Campos Capela, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 01 de março de 2.010. | |
| Situação do Projeto: APROVADO . Ao final da execução deste Projeto, apresentar ao CEP "Relatório Final de Atividades" . | |
| Atenciosamente, | |
|  | |
| Alberto Santos Capelluppi Secretário do CEP | |

JUSTIFICATIVA DE ALTERAÇÃO NO TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA

Declaramos que o Projeto de Pesquisa "Densidade Mineral Óssea e Marcadores Bioquímicos de Formação e Reabsorção Óssea em Adolescentes Usuárias de Anticoncepcional Oral Combinado" aprovado pelo CEP em 01/03/2010, teve seu título alterado para "Densidade Mineral Óssea em Adolescentes Usuárias de Anticoncepcional Oral Combinado", sem nenhuma alteração no seu conteúdo metodológico da época de apresentação para análise do CEP.

A presente alteração foi efetuada somente para adequação do título da Dissertação de Mestrado.

Botucatu, 09 / 01 / 2013

Nome/Assinatura do(a) aluno(a) Talita Poli Biazon

Talita Poli Biazon

Nome/Assinatura do(a) orientador (a) Tamara B. L. Goldberg

Tamara B. L. Goldberg

Programa de Pós Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia

09185 09/01/2013 00000000 COMITE DE ETICA EM PESQUISA FMB - UNESP