



CRISTINA MARIA TEIXEIRA FORTES

**DENSIDADE MINERAL ÓSSEA DE ADOLESCENTES
DO SEXO FEMININO E SUAS RELAÇÕES COM
BIOMARCADORES ÓSSEOS**

**Orientadora: Profa. Adj. Tamara Beres Lederer Goldberg
Co-orientadora: Profa. Dra. Cilmery S. Kurokawa**

Doutorado

**FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU
Universidade Estadual Paulista “ Julio de Mesquita Filho”
UNESP
2012**

CRISTINA MARIA TEIXEIRA FORTES

**“DENSIDADE MINERAL ÓSSEA DE ADOLESCENTES DO
SEXO FEMININO E SUAS RELAÇÕES COM
BIOMARCADORES ÓSSEOS”**

**Orientadora: Profa. Adj. Tamara Beres Lederer Goldberg
Co-orientadora: Profa. Dra. Cilmery S. Kurokawa**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP para obtenção do título de Doutor.

Projeto Aprovado pela FAPESP, Processo 07/07731-0.

**FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU
Universidade Estadual Paulista “ Julio de Mesquita Filho”**

UNESP

2012

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

Fortes, Cristina Maria Teixeira.

Densidade Mineral Óssea de Adolescentes do Sexo Feminino e suas
Relações com Biomarcadores Ósseos / Cristina Maria Teixeira Fortes. –
Botucatu: [s.n.], 2012

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina
de Botucatu.

Orientador: Tamara Beres Lederer Goldberg

Capes: 40103005

1. Adolescentes (Meninos). 2. Densitometria. 3. Osteoporose.

Palavras-chave: Adolescentes; Densidade Mineral Óssea; Mineralização
óssea; Osteocalcina; Osteoporose; Reabsorção óssea; Remodelação óssea.

Dedico esta tese à toda minha família, por ter sempre apoiado os meus projetos e por termos juntos vencido tantos obstáculos, em especial aos meus pais José e Mariinha pelo carinho e confiança. Obrigada.

À minha orientadora Prof. Adj. Dra Tamara Beres Lederer Goldberg, por sua dedicação, compreensão e incentivo. Obrigada pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Às adolescentes, que foram indispensáveis para a realização deste trabalho, minha sincera gratidão.

À Carla Cristiane da Silva, que me auxiliou no decorrer do trabalho.

Aos amigos Mauro Massao Takahashi e Luciana Nunes Mosca, que me auxiliaram no estudo dos registros alimentares.

Ao Prof. Dr. Altamir Santos Teixeira pela avaliação radiológica das adolescentes.

À Prof. Dra Eliana Petri Nahas, Prof. Dra Glaucia M. F. da Silva Mazeto, Prof. Dr João Lyra e a Prof. Dra Cilmary Suemi Kurokawa, que gentilmente me deram sugestões e me apoiaram no desenvolvimento desta pesquisa. Muito obrigada!

Aos meus queridos amigos do Laboratório Experimental de Pediatria, Paulo Sergio Dionysio e Maria Regina Moretto de Oliveira que compartilharam comigo os momentos bons e difíceis, sempre me apoiando e me incentivando. Muito obrigada pela paciência de vocês, vocês são especiais.

Às queridas amigas Maria Regina Moretto de Oliveira e Renata Campos Capela pelo apoio no recrutamento e na coleta de dados.

Às queridas enfermeiras do ambulatório de Pediatria que sempre me auxiliaram na recepção aos pacientes.

Aos funcionários do departamento de Pediatria, Adriana, Fabiano e Paulo pela atenção sempre prestada.

À Fundação de Amparo à pesquisa do estado de São Paulo- FAPESP (Processo 07/07731-0) pelo auxílio pesquisa concedido.

À Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, que tornou possível a realização deste trabalho, minha especial gratidão.

Ao Grupo de Apoio a Pesquisa (GAP) pelo pronto atendimento aos pesquisadores desta instituição e especial ao nosso grupo de pesquisa, o nosso muito obrigado.

À Juliana Interdonato secretária do GAP pelo pronto atendimento dispensados a nós, muito obrigada.

RESUMO

Introdução: A osteoporose é uma doença que desperta grande interesse dos órgãos de saúde pública devido ao aumento de fraturas por fragilidade dela decorrentes e aos gastos envolvidos em sua reparação. Apresenta prevalência superior a 30% nas mulheres a partir dos 50 anos de idade. Alguns autores relatam que a evidência da osteoporose é resultante do não alcance de um adequado pico de massa óssea obtido nos últimos anos da adolescência.

Objetivo: Avaliar a densidade mineral óssea (DMO) de adolescentes do sexo feminino, observando seus valores para cada uma das faixas etárias (FE), idade óssea (IO), estágio de desenvolvimento mamário (M) relacionando-os aos níveis séricos de osteocalcina (OC), fosfatase alcalina óssea (FAO) e telopeptídeo carboxiterminal (s-CTX).

Métodos: Estudo transversal prospectivo realizado com 72 adolescentes saudáveis, do sexo feminino, na faixa etária de 9 a 20 anos incompletos e residentes no município de Botucatu-SP. As variáveis estudadas foram: peso, estatura, índice de massa corpórea (IMC), M, IO, ingestão de cálcio, DMO e níveis séricos dos marcadores bioquímicos de remodelação óssea (OC, FAO e s-CTX), coletados no período entre 08h00min e 10h00min, após 12h de jejum. A massa óssea foi mensurada através da DMO, pelo método de Densitometria Óssea por Atenuação de Raios X de Dupla Energia (DXA), realizado em regiões da coluna lombar (L1-L4), fêmur proximal e corpo total. As diferenças estatísticas foram avaliadas utilizando teste ANOVA e *Bonferroni* com valor de $p < 0,05$. Para a correlação entre as variáveis DMO, OC, FAO, s-CTX, IC (idade cronológica), IO e IMC foi utilizados o teste de correlação linear de *Spearman*.

Resultados: A DMO demonstrou incrementos em todas as regiões estudadas coluna lombar, fêmur proximal e corpo total com o avançar da idade cronológica, sendo as médias respectivamente observadas em FE1 de 0,631, 0,692, 0,798 g/cm^2 ; em FE2 de 0,698, 0,763, 0,840 g/cm^2 ; em FE3 de 0,865, 0,889, 0,972 g/cm^2 ; em FE4 de 0,902, 0,922, 1,013 g/cm^2 e para FE5 de 0,944, 0,929, 1,35 g/cm^2 , indicando diferenças significativas a partir de 13 a 14 anos (FE3) e quando as meninas atingiam o estágio M3 de desenvolvimento mamário (0,709, 0,832, 0,867 g/cm^2). Em relação aos biomarcadores observou-se que as médias

obtidas para FAO, OC e s-CTX foram mais elevadas quando as adolescentes se apresentavam em estágios de desenvolvimento mamário M2 e M3 (M2: FAO=110,16 U/L, OC=33,81ng/mL e s-CTX =1,66 ng/mL e M3: FAO=136,50 U/L, OC=39,15ng/mL e s-CTX=1,88 ng/mL) e nas IC de FE1 e FE2 (9 a 12 anos). Os biomarcadores de remodelação óssea se correlacionaram inversamente com as FE, com as IO e com as DMO avaliadas nos três sítios (coluna lombar, fêmur proximal e corpo total).

Conclusões: Ocorreu aumento expressivo da massa óssea durante a adolescência. Esse aumento significativo foi percebido em níveis de desenvolvimento mamário M3 e os anos críticos para sua aquisição evidenciaram-se a partir dos 13 aos 14 anos de idade, para todos os sítios avaliados pela DMO. As maiores médias dos biomarcadores foram obtidas quando as adolescentes se encontravam nos estágios M3 de desenvolvimento mamário e nas faixas etárias iniciais da adolescência. Os marcadores bioquímicos de remodelação óssea apresentaram uma correlação significativa, porém negativa com as DMO, com as IO e com as FE. Diante dessas observações conclui-se que, apesar do depósito de massa óssea continuar a ocorrer de forma intensa na segunda década de vida, os biomarcadores apresentaram seus menores valores ao final da adolescência.

Palavras-chave: Adolescentes; Densidade Mineral Óssea; Mineralização Óssea; Remodelação Óssea; Reabsorção Óssea; Osteocalcina; Osteoporose.

ABSTRACT

Introduction: Osteoporosis is an illness that raises great interest of the public health offices due to the increase in fractures due to fragility and the expenses involved in its healing. There is a prevalence of more than 30% in women from 50 years old on. Some authors report that osteoporosis evidence is a result of lacking the adequate peak of bone mass obtained in the late adolescence years.

Objective: To evaluate bone mineral density (BMD) of female adolescents, observing its values for each one of the age groups (AG), bone age (BA), breast development stage (M) relating them to serum Osteocalcin (OC), Bone Alkaline Phosphatase (BAP) and e Carboxi-terminal Telopeptide (s-CTX).

Methods: A prospective transversal Study performed in 72 female healthy adolescents, group age from 9 to 20 years and dwelling in Botucatu-SP. Studied variables were: weight, height, body mass index, (BMI), M, IO, calcium intake, DMO and serum levels of biochemical markers of bone remodeling (OC, FAO e s-CTX), collected during the morning between 8 a.m. to 10 a.m. after 12h of fast. Body mass was measured using DMO by Bone Densitometry method by dual energy X-ray absorptiometry (DXA), performed in regions of lumbar spine (L1-L4), proximal femur and total body. Statistical differences were evaluated using ANOVA and *Bonferroni* tests with values of $< 0,05$. For the correlation between variables DMO, OC, FAO, s-CTX, IC, IO and IMC *Spearman* linear correlation test were used.

Results: DMO showed increases in all studied regions; lumbar spine, proximal femur and total body as chronological age advanced and the averages respectively observed in FE1: 0,631, 0,692, 0,798 g/cm²; in FE2: 0,698, 0,763, 0,840 g/cm²; in FE3: 0,865, 0,889, 0,972 g/cm²; in FE4: 0,902,0,922,1,013 g/cm² and for FE5: 0,944, 0,929, 1,35 g/cm², indicating significant differences from 13 to 14 years of age (FE3) and when girls reached stage M3 of breast development (0,709, 0,832, 0,867 g/cm²). Related to biomarkers one observed that obtained averages for FAO, OC and s-CTX were higher when adolescents were in breast development M2 and M3 (M2: FAO=110,16 U/L, OC=33,81ng/ml and s-CTX =1,66 ng/ml and M3: FAO=136,50 U/L, OC=39,15ng/mL and s-CTX=1,88 ng/mL), and when they belonged to FE1 and FE2 (9 to 12 years).

Biomarkers of bone remodeling inversely correlated to FE, with IO and with DMO evaluated in three sites (lumbar spine, proximal femur and total body).

Conclusions: There was a remarkable increase of body mass during adolescence. This significant increase was noted in breast M3 and the critical years to acquire the same was identified from 13 to 14 years old for all the evaluated sites by DMO. The highest averages of biomarkers were obtained when adolescents were in stages M3 of breast development and at adolescence early group age. Bone remodeling biochemical markers indicated a significant correlation, although negative with DMO, with IO and with FE. In face of the observations one concludes that, despite bone mass deposit proceed consistently to occur during the second decade of life, biomarkers showed their lower values at the end of adolescence.

Key-words: Adolescents; Bone Mineral Density, Bone mineralization, bone Remodeling, Bone Reabsorption, Osteocalcin, Osteoporosis.

SUMÁRIO

RESUMO

1. INTRODUÇÃO	01
1.1 Puberdade e Metabolismo Ósseo	02
1.2 Osteoporose	05
1.3 Densidade Mineral Óssea	06
1.4 Marcadores de Remodelação Óssea	07
1.4.1 Fosfatase Alcalina Óssea	10
1.4.2 Osteocalcina	11
1.4.3 s-CTX	11
2. OBJETIVOS	15
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	16
3.1 Sujeitos	17
3.2 Critérios de Inclusão	18
3.3 Critérios de não Inclusão	19
3.4 Critérios de Exclusão	21
3.5 Seqüência da Coleta de Informações	22
3.6 Caracterização Sociocultural e Familiar	22
3.7 Caracterização Dietética	23
3.8 Antropometria	23
3.9 Exame Clínico e Avaliação dos Caracteres Sexuais	24
Secundários	
3.10 Radiografia de Mão e Punho	24
3.11 Densitometria Óssea	24

3.12 Coleta Sangue	27
3.12.1 Marcadores Bioquímicos de Remodelação Óssea	27
3.13 Análise Estatística	30
4. RESULTADOS	32
5. DISCUSSÃO	42
6. CONCLUSÃO	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXOS	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias e desvios padrão de indicadores nutricionais, ingestão de cálcio, da mineralização óssea e biomarcadores de remodelação óssea entre os grupos de faixa etária - idade cronológica (n=72).

Tabela 2. Médias e desvios padrão de indicadores nutricionais, mineralização óssea e marcadores bioquímicos de remodelação óssea entre os grupos de nível maturacional (n=72).

Tabela 3. Médias e desvios padrão de indicadores nutricionais, mineralização óssea e marcadores bioquímicos de remodelação óssea entre os grupos de idade óssea (n=72).

Tabela 4. Correlação de *Spearman* entre DMO (coluna lombar, fêmur proximal e corpo total), Marcadores Bioquímicos (FAO, OC e s-CTX) em relação à IO e FE.

Tabela 5. Coeficientes de Correlação entre os biomarcadores ósseos e indicadores da mineralização óssea nas regiões da coluna lombar (L1-L4), fêmur proximal e corpo total.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Fluxograma de representação da população de adolescentes incluídas no estudo.

Figura 02 - Representação gráfica das médias e desvios padrão das densidade mineral óssea da coluna lombar, fêmur proximal e corpo total em g/cm^2 segundo as faixas etárias (A), nível maturacional de desenvolvimento mamário (B) e idade óssea (C).

Figura 03– Média e Desvio-padrão da fosfatase alcalina óssea (A), osteocalcina (B) e telopeptídeo carboxiterminal (C) segundo grupos de faixa etária, desenvolvimento mamário e idade óssea.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Puberdade e Metabolismo Ósseo

O período da puberdade é caracterizado por profundas alterações biológicas e endócrinas, sendo que as manifestações externas se revelam pelo crescimento físico e pela maturação sexual, processos dinâmicos que envolvem transformações nos níveis molecular, celular e somático do organismo (SILVA et al., 2004; KRUPA; MEAZGOWSKI, 2005).

A aceleração do crescimento físico, evidenciada durante este período, é uma manifestação resultante da maturação sexual, que envolve interações entre o sistema endócrino e o esquelético. O crescimento sofre influências hormonais cujo conhecimento é importante na compreensão das mudanças observadas durante a puberdade e suas possíveis variações e anormalidades. Os aspectos nutricionais relacionados com o crescimento físico merecem também grande atenção, uma vez que a nutrição desempenha um importante papel na regulação de hormônios, tais como: gonadotrofinas, hormônio de crescimento (GH), regulação de esteroides gonadais e nas concentrações do fator de crescimento *insulin-like* (IGF-1). Sabe-se que as adolescentes apresentam seu pico máximo de velocidade de crescimento (PHV) em média dois anos antes do que adolescentes do sexo masculino (PETTERSSON et al., 2000; JONES et al., 2001; LIMA et al., 2001; OUTILA et al., 2001; NEINSTEIN, 2002; SILVA et al., 2004). Além desta atuação, a nutrição proporciona energia e nutrientes necessários ao crescimento e à mineralização do esqueleto.

Estas alterações evidenciam-se de maneira bastante diferenciada de acordo com o gênero e a etapa na qual o adolescente se encontra. Os adolescentes

experimentam vários tipos de maturação, incluindo a cognitiva, expressa pelo desenvolvimento dos pensamentos operacionais formais a psicossocial, caracterizada pela definição da própria identidade, busca de autonomia, questionamento dos padrões familiares e interação grupal (SILVA et al., 2004) além das alterações biológicas, conceituadas como puberdade. Todas essas alterações psicossociais refletem no crescimento e desenvolvimento devido a sua importância nos hábitos alimentares adotado pelo adolescente durante esta fase.

O total de massa óssea adquirida no período entre 10 a 20 anos é considerado um dos fatores de proteção mais importantes na prevenção da osteopenia/osteoporose e fraturas por fragilidade, que ocorrem durante a adultícia e a senilidade (GUSSINYÈ; CARRASCOSA, 1998; GOLDBERG, 2006). Em mulheres saudáveis, 40% do pico de massa óssea é acumulado durante os anos de adolescência. Frequentemente, mulheres adolescentes alcançam 92% de seu conteúdo mineral ósseo total por volta dos 18 anos de idade, e 99% até os 26 anos (RABINOVICH, 2004; HAREL et al., 2007).

Jackman e colaboradores (1997) verificaram que em adolescentes do sexo feminino de 11 a 14 anos a retenção de cálcio foi 4,5 vezes maior do que a observada em mulheres adultas de 20 a 32 anos, sendo esta retenção necessária para que o incremento de massa óssea ocorresse entre os anos considerados críticos no acúmulo do capital mineral ósseo. A baixa ingestão desse mineral, durante a fase de crescimento de crianças e adolescentes, resulta em menor mineralização óssea quando comparada à de indivíduos da mesma faixa etária que tiveram ingestão adequada de cálcio (GREER, 2005).

Embora a absorção de cálcio esteja aumentada neste período da vida, a quantidade de alimentos ricos em cálcio consumido por adolescentes é decisiva no processo de mineralização óssea (JACKMAN et al., 1997). A *Dietary Reference Intakes* (DRI, 2010) recomenda a ingestão de 1300 mg/dia tanto para adolescentes do sexo feminino como do masculino. Além desta informação, o Instituto Nacional de Saúde (NIH, 1993) estabelece que a ingestão “ideal” de cálcio deve ser de 800 mg/dia para crianças de 3 a 8 anos e de 1300 mg/dia para crianças e adolescentes de 9 a 17 anos, sendo recomendada a manutenção de 1000 a 1500mg/dia após essa fase da vida.

Muitos autores defendem que a mineralização óssea começa na vida fetal e continua durante a infância e a adolescência, estabilizando entre 21 e 25 anos de idade (LORENTZON et al., 1999). Assim, compreender e avaliar a aquisição da massa óssea em população de adolescentes pode ser determinante na prevenção da osteoporose. A osteoporose atualmente é considerada um grave problema de saúde pública (PRYNNE et al., 2004), com alto impacto econômico, onerando muito os custos em relação à saúde (CAMARGO et al., 2005).

Diante deste contexto, compreender os aspectos responsáveis pela aquisição e manutenção da mineralização óssea é extremamente importante por ser ela a responsável pela integridade estrutural do esqueleto (KHAN et al., 2001). Este se constitui no maior reservatório dos íons cálcio e fosfato na ordem de 99% e 90%, respectivamente (JACKMAN et al., 1997). Os ossos constituem um tecido metabolicamente ativo que sofre um processo contínuo de renovação e remodelação. Esta atividade é consequência, em sua maior parte, da atividade de dois tipos celulares principais, característicos do tecido ósseo: os osteoblastos e os

osteoclastos. Um terceiro tipo celular, os osteócitos, derivados dos osteoblastos, é metabolicamente menos ativo e sua função ainda não foi totalmente esclarecida. O tecido ósseo exerce duas funções primordiais, uma mecânica, relacionada com a proteção de órgãos nobres e apoio à sustentação contra a gravidade e uma metabólica, bastante complexa e não menos importante (WATTS, 1999; SEIBEL, 2002).

A mineralização óssea caracteriza-se por um processo cíclico de produção e reabsorção cujo equilíbrio se modifica ao longo da vida, contudo, no período da infância e adolescência ocorre predomínio da formação óssea sobre a reabsorção; na idade adulta, ambos os processos se estabilizam e a partir dos 45 a 50 anos e principalmente no sexo feminino, ocorre o predomínio da reabsorção (KHAN et al., 2001).

O processo de remodelação óssea se desenvolve com base em dois processos antagônicos, porém acoplados: a formação e a reabsorção óssea. O conjunto dos dois processos é mantido em longo prazo por um complexo sistema de controle. Uma série de condições como idade, mobilidade diminuída, ação de algumas drogas, baixo consumo de cálcio, doenças osteometabólicas, entre outros fatores, podem alterar este equilíbrio, levando ao predomínio de um sobre o outro, com conseqüências metabólicas (hiper ou hipocalcemia) e/ou mecânicas (osteoporose) (VIEIRA, 1999; SOYKA et al., 2000; FARES et al., 2003).

1.2 Osteoporose

Duas são as formas clássicas de osteoporose: a fisiológica ou primária e a secundária, geralmente conseqüente de outras patologias. A forma primária ou Tipo

I cursa com alta reabsorção óssea, decorrente de uma atividade osteoclástica acelerada e denominada como osteoporose pós-menopausa geralmente presente em mulheres a partir dos 50 anos. A osteoporose Tipo II apresenta o processo de reabsorção normal ou ligeiramente aumentada associada a uma atividade osteoblástica diminuída, resultando no decréscimo da formação óssea. Este tipo trata-se de osteoporose senil ou de involução, frequentemente evidenciada nas mulheres mais idosas, a partir dos 70 anos, e também nos homens quando ultrapassam esta faixa etária (CAMPOS et al., 2004).

Em qualquer dessas formas, a osteoporose cursa silenciosa e assintomática por longos períodos. As primeiras manifestações clínicas ocorrem quando já houve perda de 30% a 40% da massa óssea. No homem, a perda de massa óssea é mais lenta do que a verificada para o sexo feminino, sendo que a osteoporose primária se manifesta via de regra, somente após os 70 anos. Neste grupo, a espoliação óssea é gradual e não se acelera como ocorre com a mulher exposta às alterações resultantes da menopausa (LAZARETTI-CASTRO et al., 2008).

1.3 Densidade Mineral Óssea.

Muitos autores relatam que o pico de massa óssea e os locais específicos para a avaliação da densidade mineral óssea (DMO) são indicadores importantes para prevenir a osteopenia e/ou osteoporose precoce. Este método propicia uma análise altamente precisa e com baixa exposição à radiação, sendo adequado seu emprego no acompanhamento de crianças e adolescentes (RABINOVICH, 2004; HAREL et al., 2007). A DMO realizada por atenuação de raio X de dupla energia (DXA), é o exame recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2003) como critério diagnóstico da síndrome osteoporótica. A DMO é considerada uma

medida pontual estática e, portanto, não reflete as alterações dinâmicas às quais o tecido ósseo se submete, sendo seu resultado considerado apenas um momento de um quadro evolutivo. Para suprir esta limitação e, desta forma, melhorar a sensibilidade e especificidade na avaliação do risco de fraturas o uso de alguns marcadores biológicos vem sendo recomendado para permitir o conhecimento do processo da remodelação óssea (SARAIVA; LAZARETTI, 2002; HAREL et al., 2007).

1.4 Marcadores de Remodelação Óssea

A remodelação óssea é dependente da ação dos osteoblastos e osteoclastos sobre a matriz orgânica e minerais presentes nos ossos. Os osteoblastos sintetizam e mineralizam a matriz proteica com cristais de hidroxiapatita e colágeno tipo I, sendo mediada pela fosfatase alcalina óssea (FAO) e osteocalcina (OC). Os osteoclastos são o principal tipo celular envolvido na reabsorção da matriz óssea e sua atividade é avaliada por marcadores de reabsorção óssea, CTX ou NTX(Mora et al., 1999).

Alguns estudos envolvendo adolescentes do sexo feminino entre 11 e 14 anos, sugerem que a avaliação da formação óssea possa ser complementada com avaliação dos níveis de osteocalcina (OC) e da fosfatase alcalina óssea (FAO), reconhecidas como marcadores ósseos de formação, sugerindo que a idade 11 e 14 anos seja o período de maior incremento ósseo entre adolescentes (WEAVER et al., 1996).

Na realidade, como o processo de formação é estritamente ligado ao de reabsorção, um marcador que avalia o processo de reabsorção pode, em algumas

situações, também refletir o processo de formação. Isto ocorre quando o tecido ósseo se encontra em equilíbrio, durante o intervalo entre a terceira e quinta décadas de vida, quando os indivíduos em geral se apresentam em estabilidade do ponto de vista da mineralização óssea.

Assim, é possível antever que os marcadores de formação óssea se encontram proporcionalmente mais elevados durante a infância e a adolescência do que os de reabsorção. Alguns fatores são determinantes para a remodelação óssea como genética, idade, sexo, estágio pubertário, estilo de vida, nutrição, atividade física e presença de doenças ósseas e/ou crônicas, que podem alterar seus valores, mesmo durante a trajetória evolutiva da adolescência (FARES et al., 2003).

Nas mulheres pós menopausa, os marcadores também tendem a elevar-se, com os marcadores de reabsorção apresentando um aumento maior que os de formação. Em outras fases do ciclo vital feminino, como durante a gravidez e a lactação o metabolismo ósseo também é mais acelerado, resultando em aumento dos níveis dos marcadores de formação e reabsorção (SOWERS et al., 1995).

Um importante aspecto que deve ser salientado é a grande variabilidade que os marcadores apresentam no decorrer do dia, em especial quando medidos na urina, onde podem apresentar oscilações em seus resultados de 30% num mesmo indivíduo, em condições basais. Outros fatores podem também interferir nos níveis dos marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo, independentemente de alterações na remodelação de longa duração. Assim, a remodelação óssea apresenta um ritmo circadiano, com maiores níveis durante a noite. Em função disto, a primeira urina da manhã, ou amostra de soro coletada nesse horário, reflete o pico

de reabsorção óssea e apresentará valores seguramente mais altos que uma amostra colhida em outro horário (MIURA, 2009)

Quanto aos marcadores séricos de formação, um aspecto importante a considerar quanto à indicação e interpretação dos valores é a significativa diferença de meia-vida biológica, entre a FAO, em torno de 1,6 dia e a OC inferior a 1 hora. Logo, fenômenos agudos são mais bem representados pelas concentrações de OC, enquanto as concentrações de FAO são mais estáveis e reprodutíveis (RAUCHENZAUNER et al., 2007). Em função de todos os aspectos discutidos, a interpretação correta dos valores de marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo requer conhecimento das reais condições da coleta da amostra, bem como da condição geral e específica do paciente.

Assim vários pesquisadores sugerem que entre os marcadores de formação óssea se destaca a OC e a FAO que se mostram mais sensíveis para avaliar níveis de formação óssea. Já em relação aos marcadores de reabsorção óssea, algumas pesquisas sugerem o telopeptídeo carboxiterminal (s-CTX) como um bom marcador (RAUCHENZAUNER et al., 2007).

Van Coeverden e colaboradores (2002) dosaram a deoxipiridinolina e o s-CTX na urina e no soro respectivamente, apontando o s-CTX como o melhor marcador de reabsorção óssea ao compararem os resultados obtidos, relacionando-os à massa óssea durante a puberdade. Estes pesquisadores avaliaram 155 meninos e 151 meninas saudáveis de 11 a 16 anos, residentes na cidade de Amsterdã e realizaram avaliação dos estágios pubertários, densitometria óssea, coleta de amostras de sangue e urina. Após um ano, foram repetidas as avaliações e seus resultados

mostraram que os marcadores ósseos se correlacionavam com a massa óssea avaliada pelo conteúdo mineral ósseo e aumentaram em ambos os sexos.

Diante destes aspectos, a literatura científica enfatiza que os marcadores bioquímicos de remodelação óssea fornecem uma contribuição importante para a compreensão da dinâmica do metabolismo ósseo, tornando-se uma ferramenta na complementação das avaliações estáticas obtidas pela realização da densitometria óssea.

1.4.1 Fosfatase Alcalina Óssea

A FAO encontrada no tecido ósseo é uma glicoproteína, que se localiza na membrana celular dos osteoblastos. Sua função ainda não foi totalmente esclarecida, está certamente envolvida no processo de mineralização óssea. A fosfatase alcalina (FA) é medida por meio de sua atividade e corresponde à soma das diversas isoformas presentes no soro (SARAIVA; LAZARETTI-CASTRO, 2002). Em condições normais, as duas formas predominantes em circulação (>90% do total) de fosfatase alcalina são a óssea e a hepática, em quantidades equivalentes. A outra forma circulante, em concentrações significativas, é a forma intestinal, que representa menos de 5% do total. A fosfatase alcalina é uma ectoenzima, ou seja, está localizada na superfície externa da célula, onde exerce sua atividade. A FAO é o marcador de formação óssea mais frequentemente utilizado. Os fenômenos ósseos associados às elevações da fosfatase alcalina total (FAT) necessitam ser de grande intensidade para que ela possa ser utilizada como marcador ósseo ou como parâmetro de resposta ao tratamento. Assim, quando se busca maior sensibilidade e especificidade, a recomendação é que se indique a avaliação da fração FAO (SARAIVA; LAZARETTI-CASTRO, 2002).

1.4.2 Osteocalcina

A OC é um pequeno peptídeo de 49 aminoácidos, que contém resíduos de 3g-carboxiglutamil (GLA) nas posições 17, 21 e 24, sendo a proteína não colágena mais abundante nos ossos e na dentina óssea, perfazendo 1 a 2% do total de proteína óssea. Uma fração da OC migra em direção à corrente sanguínea, onde é rapidamente eliminada pelos rins, apesar de ser depositada em quantidade significativa na matriz óssea. Além disto, não pode ser considerada um marcador de reabsorção óssea, pois é totalmente destruída quando da reabsorção promovida pelos osteoclastos. Estudos indicam que o aparecimento e o aumento da produção desta proteína são coincidentes com o início do processo de mineralização, sendo pois sua produção uma competência do osteoblasto maduro (OWEN et al., 1990). A OC mede a atividade osteoblástica em estágios diferentes daquela advinda da FAO. Como resultado disto a correlação entre as duas medidas apresenta-se bastante reduzida. As concentrações destes dois marcadores estão elevadas na adolescência e no período neonatal, quando o crescimento ósseo é mais acentuado, atingindo níveis 10 vezes superiores aos evidenciados entre adultos (DIAZ et al., 1995).

1.4.3 Telopectídeos carboxitermina

Em relação aos marcadores de reabsorção óssea citamos os s-CTX que apresentam-se mais sensíveis quando avaliados no soro e, também, mais específicos às respostas terapêuticas em pacientes do que outros marcadores de reabsorção óssea, especificamente os medidos na urina, d-peridinolina e NTx (FARES et al., 2003).

Concentrações elevadas de s-CTX são encontradas em pacientes com reabsorção óssea aumentada e utilizadas para auxiliar o monitoramento da eficácia da terapia com antirreabsortivos ósseos, quando estes medicamentos são utilizados para pacientes portadores de osteoporose ou de outras doenças osteometabólicas (SARAIVA; LAZARETTI-CASTRO, 2002).

Embora o “marcador bioquímico ideal” ainda não tenha sido determinado, novas pesquisas e ensaios estão se desenvolvendo rapidamente, com o intuito de isolá-los como ferramenta importante na avaliação e controle do capital mineral ósseo. Não resta dúvida de que medidas destes marcadores são incapazes de prever as taxas de formação e reabsorção óssea. Estas podem, no entanto, auxiliar no diagnóstico e prognóstico evolutivo de doenças osteometabólicas e, associados ao DXA, também favorecer a avaliação desde o momento da aquisição do pico de massa óssea, intercorrências sofridas durante a idade adulta até a perda da massa óssea, observada no climatério e na senilidade.

Estima-se que a incidência de fraturas ósseas por fragilidade resultantes da baixa massa óssea quadruplicará nos próximos 50 anos, em decorrência do aumento de expectativa de vida (RIGGS; MELTON, 1995). No entanto, infere-se que a osteopenia e a osteoporose poderiam deixar de ser uma preocupação para os adultos e idosos, bem como para os departamentos e órgãos de saúde, uma vez que a DMO, que sinaliza o pico de densidade mineral óssea, adquirida até o final da adolescência e começo da idade adulta, fosse maximizada. Assim, pediatras e hebiatras têm a responsabilidade de garantir as condições necessárias para que crianças e adolescentes desenvolvam a melhor qualidade possível de sua mineralização óssea, evitando fraturas na idade adulta, uma vez que se sabe ser a

osteoporose do adulto inversamente proporcional ao pico de massa óssea, adquirido nas duas primeiras décadas da vida (CAMPOS et al., 2003).

Assim, estudos que contemplem a associação da DMO com os marcadores bioquímicos de remodelação óssea são cada vez mais necessários para utilização na prática médica, fornecendo uma avaliação mais precisa da massa óssea dos indivíduos avaliados, de acordo com todas as especificidades pontuadas no decorrer da introdução deste estudo.

Considerando-se que, os estudos realizados sobre densidade mineral óssea e sua relação com marcadores bioquímicos de remodelação óssea em adolescentes, encontrados na literatura nacional e internacional, até o momento, não divulgam claramente seus valores de referência para cada faixa etária, de acordo com o gênero, com indicadores de maturidade sexual e esquelética, parece necessário e altamente esclarecedor desenvolver pesquisa em nosso meio, que aborde com fidedignidade esta temática, o que favorecerá o entendimento e a compreensão da mineralização óssea numa época tão importante da vida.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

- Avaliar a densidade mineral óssea (DMO) obtida em coluna lombar (L1-L4), fêmur proximal e corpo total de adolescentes saudáveis do sexo feminino, na faixa etária que contempla a adolescência; determinando seus valores para cada uma das faixas etárias estudadas.
- Determinar o comportamento da DMO em adolescentes do sexo feminino, em função da faixa etária, do nível maturacional dos caracteres sexuais secundários avaliados pelos estágios de desenvolvimento mamário e pela maturidade esquelética, avaliada pela idade óssea.
- Determinar os níveis dos marcadores bioquímicos da remodelação óssea em adolescentes saudáveis do sexo feminino, relacionando-os à DMO realizada em coluna lombar (L1-L4), fêmur proximal e corpo total..

CASUÍSTICA E MÉTODOS

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. Sujeitos

Participaram desse estudo adolescentes do sexo feminino de 9 a 20 anos incompletos, voluntárias, saudáveis e estudantes da rede particular de ensino, *Associação Brasileira de Educadores Lassalistas, Colégio La Salle (Anexo 01) e Colégio Santa Marcelina (Anexo 02)*, situados no município de Botucatu - Estado de São Paulo.

A pesquisa teve aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP (Anexo 03).

Para a efetivação da coleta, os responsáveis pelos adolescentes receberam um documento, termo de consentimento livre esclarecido e forneceram autorização para que as adolescentes sob sua responsabilidade pudessem participar da pesquisa (Anexo 04). As adolescentes também estavam cientes do conteúdo da pesquisa e uma vez considerando-se voluntárias, assinaram o consentimento livre e esclarecido.

As direções dos referidos colégios tiveram conhecimento pleno do projeto de pesquisa e autorizaram a realização do trabalho (Anexo 01 e 02), permitindo que suas alunas participassem, como voluntárias. Todos os procedimentos foram executados em horário extra-escolar, sem afastamento ou comprometimento das atividades escolares.

Foi firmado o compromisso de entrega dos resultados individuais as adolescentes e seus responsáveis, das densitometrias ósseas, dos exames de idade óssea e dos resultados provenientes das análises dos exames laboratoriais, todos de forma gratuita, pois suas efetivações só foram possíveis mediante auxílio de Projeto de Pesquisa financiado pela Fapesp (número 2007/07731-0). Tal

procedimento significou a possibilidade de conhecimento da massa óssea logo após a realização da densitometria óssea, assim como pelas dosagens dos marcadores ósseos, servindo como um parâmetro na sua vida futura.

Baseando-se em estudos prévios, realizados com adolescentes do sexo masculino e feminino, sob as mesmas condições do presente estudo (SILVA et al., 2001; SILVA et al., 2004; OLIVEIRA et al, 2011) e, admitindo-se nível de significância de 5% para o intervalo de confiança de 95%, determinados para uma distribuição normal, com $z=1,96$ (FONSECA; MARTIN, 1996) para um universo de 497 escolares, de acordo com o gênero, matriculados nas escolas particulares utilizadas, 47 seriam necessários para compor a amostra de cada estudo anterior. Conseqüente a estes trabalhos, os mesmos cálculos foram utilizados para determinar o N amostral das adolescentes que comporiam o atual estudo, e optou-se por praticamente duplicar a amostra final de adolescentes, com o que se garantiria contornar as possíveis interferências na coleta e interpretação dos exames laboratoriais, relacionados aos marcadores ósseos.

Assim, aumentou-se a amostra final, incluindo mais 39 adolescentes, totalizando 86 meninas recrutadas, particularmente, entre as idades em que foram detectados os anos de maior incorporação de massa óssea, com o que as análises estatísticas seriam favorecidas (Figura 1).

3.2 Critérios de Inclusão

Foram incluídas adolescentes do sexo feminino, voluntárias entre aquelas que freqüentavam as escolas citadas no item anterior, podendo ou não aceitar o convite para participar da pesquisa. Foram incluídas adolescentes saudáveis, com peso entre os percentis 10 e 90, segundo critérios adotados pelo *Centers for Disease*

Control and Prevention (CDC, 2002), estatura entre os percentis 10 e 97,5 para cada faixa de idade (Hamill et al., 1979), e com índice de massa corporal (IMC) entre os percentis 5 e 85, adequado para a idade (MMWR, 1994). Em momento posterior, quando da análise parcial dos dados coletados, observou-se que as adolescentes apresentavam idades ósseas avançadas, com valores, em média, superiores a um ano em relação a sua idade cronológica. Desta forma, foram aceitas para compor a amostra, meninas pertencentes a faixa etária de 9 anos, que pelo conceito expresso pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2003) não fariam parte do que se convencionou denominar adolescência. Entretanto, se assim não se procedesse, as idades ósseas de 10 e 11 anos, bem como, os eventos pubertários muito iniciais não se fariam representar nesta amostra.

3.3 Critérios de não Inclusão

Como critérios de não inclusão determinou-se que não participariam do estudo: as adolescentes com história de prematuridade ou baixo peso ao nascimento, as submetidas a terapia prolongada com corticóides ou que utilizassem suplementação com cálcio e/ ou ferro nos últimos doze meses que antecederiam a pesquisa e as adolescentes que apresentassem as seguintes doenças: *diabetes mellitus*, desnutrição aguda ou crônica, doenças ósseas congênitas ou adquiridas, doenças gastrointestinais 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, utilização de medicamentos que afetassem o metabolismo ósseo negativamente, como, anticonvulsivantes e antiácidos com alumínio . As adolescentes não poderiam ainda ser tabagistas e/ ou etilistas, não poderiam estar vinculadas a qualquer modalidade

esportiva extra-escolar, a exceção apenas das aulas de Educação Física do próprio colégio. O controle da atividade física habitual não foi necessária, uma vez que investigações indicam que as atividades esportivas programadas são as que demonstram maior incremento na massa óssea (NORDSTRÖM et al., 1995; PETTERSSON et al., 2000; LIMA et al., 2001; MACKELVIE et al., 2002).

Além dos critérios apontados, também não participaram aquelas que utilizassem ou se utilizaram de contraceptivos hormonais nos últimos vinte e quatro meses antes da coleta de dados, uma vez que os mesmos poderiam interferir sobre a mineralização óssea (ZANDER, 2007), as grávidas no momento de seleção, as que tivessem sido anteriormente gestantes ou que tivessem amamentado seus filhos, pelas possíveis interferências sobre o depósito do capital mineral ósseo.

Estes últimos critérios foram seguidos rigorosamente e dificultaram sobre certa maneira a execução deste estudo, uma vez que é de conhecimento que o início, em idades cada vez mais precoces, das atividades sexuais entre adolescentes (VIEIRA, et al., 2007; VIEIRA, et al., 2008) e, em decorrência de tal comportamento, a prescrição e a utilização de contraceptivos em idades anteriores, quando comparadas aos mesmos procedimentos em anos que antecedem a realização desta pesquisa (VIEIRA et al., 2006)

Quanto a avaliação dietética, não foram incluídas as adolescentes que faziam uso exclusivo de dieta vegetariana, aquelas com alto consumo de fibras, cafeína, ou refrigerante e as que não consumissem produtos lácteos diariamente.

3.4 Critérios de Exclusão

O número total de adolescentes recrutadas para o estudo foi de 86. Desse total, 14 meninas tiveram que ser excluídas por motivos diversos, permanecendo ao término da coleta, um N amostral final de 72 adolescentes.

Os motivos de exclusão das adolescentes foram:

- 01 por apresentar o resultado da densitometria óssea com mais de 2,5 desvios padrão da média calculada para sua idade;
- 13 não compareceram para a conclusão de todas as etapas da coleta, ora não realizando o Rx de Idade Óssea, ora não comparecendo na data marcada para realização da Densitometria Óssea ou coleta sanguínea, e algumas por não terem preenchido o registro alimentar de três dias.

A todas aquelas, excluídas do trabalho, foram oferecidas três oportunidades para realização dos exames ou do preenchimento dos registros alimentares. As pesquisadoras, envolvidas na coleta, entravam em contato telefônico com os pais ou responsáveis, estimulando para que as etapas fossem cumpridas. Após três solicitações realizadas, sem qualquer retorno ou justificativa da ausência, a adolescente foi considerada excluída (Figura 01)

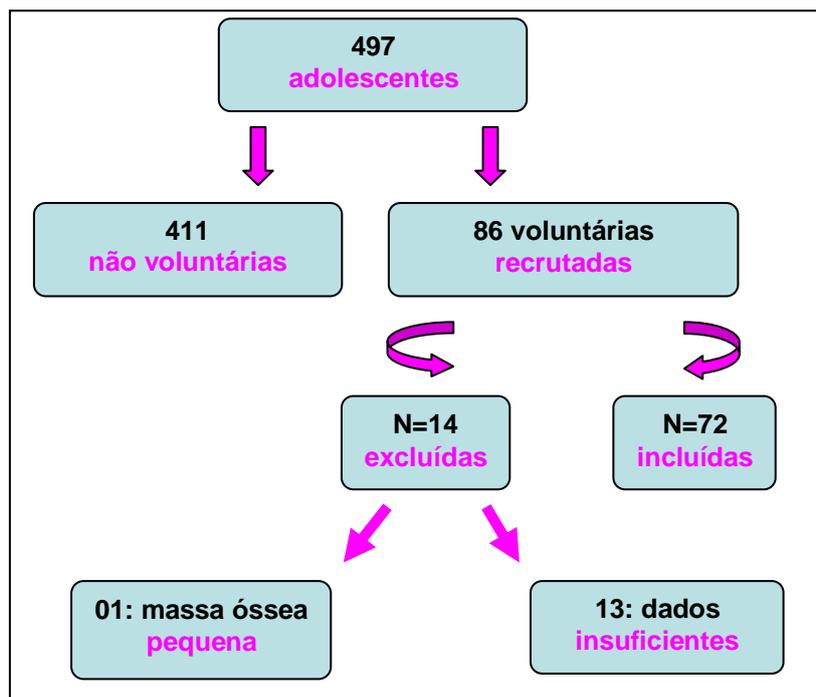


Figura 01: Fluxograma de representação da população de adolescentes incluídas no estudo.

3.5 Seqüência da Coleta de Informações

As adolescentes voluntárias e que se enquadravam aos critérios de elegibilidade foram então convidadas junto com seus responsáveis a comparecerem ao Ambulatório de Medicina do Adolescente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, onde foi realizada uma entrevista com seus responsáveis, seguida de exame físico geral e especial, para que qualquer alteração física fosse detectada.

3.6 Caracterização Sociocultural e Familiar

No momento de atendimento no ambulatório foi entregue as adolescentes um questionário de caracterização sociocultural e familiar (Anexo 05). As respostas a estes questionários foram fornecidas por seus responsáveis quanto aos aspectos de

caracterização familiar. Caso alguma informação ficasse incompleta ou inadequadamente preenchida, a adolescente e seu responsável eram questionados de forma sigilosa e confidencial, para que se obtivesse o maior número de questões com respostas completas.

3.7 Caracterização Dietética

Na seqüência efetuou-se a caracterização dietética, mediante a utilização de um registro alimentar de três dias não consecutivos (Anexo 06), para se obter a média de ingestão diária do cálcio.

A ingestão recomendada para adolescentes de ambos os sexos, segundo o *Dietary Reference Intakes* é de 1300mg/dia (DRI, 2010). 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 (PHILIPHI, 2002).

3.8 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 se colocava em 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 destas medidas, vestiam o mínimo de roupa possível.

As técnicas utilizadas para as mensurações destas variáveis foram àquelas propostas por Jelliffe (1968). Buscando obter outros indicadores nutricionais das adolescentes e de posse das medidas de peso corporal e estatura, foi calculado o

índice de massa corporal (IMC), mediante a relação matemática: $IMC = \text{Peso corporal (Kg)}/\text{Estatura}^2$.

3.9 Exame Clínico e Avaliação dos Caracteres Sexuais Secundários

Procedeu-se ao exame geral e específico destas adolescentes, para que qualquer alteração física fosse detectada. Neste momento, foi realizado o exame de avaliação dos caracteres sexuais secundários, através da inspeção visual das mamas e dos pelos pubianos, por um único observador e o resultado foi confrontando aos critérios de Tanner (MARSHALL; TANNER, 1969).

3.10 Radiografia de Mão e Punho

Na seqüência foi obtida a idade óssea (IO) para a avaliação do grau de maturação esquelética. O método utilizado foi o de Greulich & Pyle (1959) chamado de método GP, em que se faz radiografia de mão e punho, a ser posteriormente comparada ao Atlas. A avaliação foi efetuada por um único avaliador experiente na área.

3.11 Densitometria Óssea

As adolescentes que cumprissem todas as etapas anteriores eram então submetidas à avaliação da massa óssea mediante um exame de densitometria óssea (DXA), utilizando um aparelho Hologic QDR 2000-Plus, da Clínica Tomocentro – Botucatu. A técnica baseia-se na atenuação, pelo corpo do paciente, de um feixe de radiação gerado por uma fonte de raio-x com dois níveis de energia.

O examinador localizou a coluna lombar nas vértebras de L1 a L4, a região do fêmur proximal direito (colo do fêmur, grande trocanter, intertrocanter e triângulo de

Ward) e corpo total. Obteve-se resultados para cada um dos locais relacionados a área total em cm^2 da região, DMO expressa em g/cm^2 e o Conteúdo Mineral Ósseo (CMO) em g.

O densitômetro foi calibrado diariamente e a avaliação foi efetuada por um único avaliador experiente e treinado para tal aferição. A varredura foi obtida na posição supina tanto para a região femural como da coluna vertebral e corpo total. Para a região femural, o membro inferior foi preso com os joelhos estendidos e localizou-se a cicatriz umbilical e a crista ilíaca.

Na avaliação do fêmur proximal a varredura partiu da crista ilíaca para o prolongamento do fêmur. O exame foi interrompido no momento em que todas as regiões (colo, trocanter, intertrocanter e triângulo de Ward) foram visualizadas e identificadas na tela do monitor.

Quando do estudo da coluna vertebral, utilizou-se um apoio para os membros inferiores de maneira que fosse mantida uma flexão do joelho de 90 graus na região coxo-femural. Este procedimento visava retificar a lordose fisiológica e com isto obter uma separação ideal entre as vértebras lombares. O nível de varredura foi estabelecido de 1 a 2 centímetros abaixo das cristas ilíacas, a aquisição da imagem foi obtida no sentido caudo-cranial, sendo o exame interrompido com a visualização na tela do monitor da 12^o vértebra torácica.

Já para a obtenção da Densitometria de Corpo Total a paciente permaneceu centrada na mesa, com a cabeça a 2,5 cm abaixo da linha horizontal, que demarca até onde o braço do *scanner* alcança. Braços ao longo do corpo e palmas das mãos apoiadas na mesa. Utilizou-se cintas para a paciente não mover as pernas e os pés, nem o restante do corpo.

A densitometria de corpo inteiro pode ser realizada em pacientes de até 196 cm, por causa do limite de linhas, 205 linhas, dos equipamentos.

A análise do exame foi estabelecida através da delimitação do mento, da articulação glenoumeral, dos rebordo-costais e das cristas ilíacas e da delimitação e demarcação dos colos femurais.

Pelo emprego da Densitometria de Corpo Total pode-se também proceder à análise da composição corporal, pois é considerada como tendo grande acurácia na avaliação nutricional de indivíduos, estejam na fase de crescimento e de aquisição de massa óssea, estejam vinculados a programas de condicionamento físico ou submetidos a tratamentos ou acompanhamento de muitas doenças que afetam a massa óssea (BRANDÃO, 1999).

Todas as avaliações, acima referidas, foram executadas mantendo-se total privacidade. Ressalta-se também que, a quantidade de radiação a que as adolescentes foram expostas são consideradas seguras e sem prejuízo para sua saúde atual e futura.

Para o exame de coluna lombar ou fêmur a dose que o paciente recebe é de 6,7 a 31 μ SV e uma dose ainda menor no exame de corpo total. Para compreender a magnitude desses valores, sugere-se que a dose de radiação emitida em uma tomografia é de 1000 μ SV e na realização de um exame radiográfico de tórax de 60 a 200 μ SV (BRANDÃO, 1999).

3.12 Coleta de Sangue

A coleta de sangue foi realizada no Ambulatório de Pediatria do Hospital das Clínicas de Botucatu após avaliação médica e durante o período de 8:00 a 10:00 h com os pacientes em jejum de 12h. Foram coletados 10 mL de sangue total com agulhas descartáveis e sistema de coleta a vácuo. Após imediata centrifugação a 3000rpm por 15 minutos, as amostras foram armazenadas a -80°C, para posterior dosagem dos marcadores ósseos.

3.12.1 Marcadores Bioquímicos de Remodelação Óssea

Diante das recomendações efetuadas pela literatura, optou-se por avaliar os seguintes marcadores bioquímicos de remodelação óssea: osteocalcina (OC), fosfatase alcalina óssea (FAO) e o s-CTX.

Tal escolha foi embasada pela alta especificidade e sensibilidade apresentada pela FAO, pela OC, marcadores ósseos de formação, e pelo s-CTX, marcador ósseo de reabsorção, segundo pesquisas apresentadas pela literatura nacional e internacional (VIEIRA, 1999; WATTS, 1999; LEHTONEN-VEROMAA et al., 2000; SEIBEL, 2002; CREMERS GARNERO, 2006) e pela tradição em pesquisa sobre ósteo- metabolismo, desenvolvida neste serviço, onde se utilizou os mesmos marcadores para o gênero masculino (GOLDBERG et al., 2009; SILVA et al., 2011).

Osteocalcina (OC)

A OC ou proteína óssea gla (GP) foi dosada pelo método *MicroVue Osteocalcin EIA (enzyme immunoassay) kit* da QUIDEL® (USA, CA, San Diego), como indicador de “*turnover*” ósseo. O imunoensaio é um teste de ELISA

competitivo que quantifica somente a OC intacta e não detecta fragmentos de tecido ósseo reabsorvido. Para realização deste teste utilizou-se microplacas de 96 alvéolos previamente tratadas com osteocalcina e sobre estes alvéolos já tratados, foram adicionados 25 µL de cada padrão reconstituído, controles e amostras de soro dos indivíduos testados. Em seguida, adicionou-se 125 µl de anticorpo anti-osteocalcina, com posterior incubação de 120 minutos a temperatura ambiente e lavagem da placa com 30 µL de tampão de lavagem, por três vezes. Após lavagem da placa e retirada do anticorpo anti-osteocalcina foi adicionado a IgG anti-camundongo conjugada com fosfatase alcalina, com posterior incubação por 60 minutos, a temperatura ambiente. A placa foi lavada novamente conforme descrito anteriormente e adicionado o substrato contendo p-Nitrofenil fosfato (pNPP) para o desenvolvimento de cor por um período de 35-40 minutos. A reação foi bloqueada com NaOH 0,5N e a leitura realizada em leitor de Elisa TP Reader, Thermo Plate; no comprimento de onda de 405 nm. A obtenção das concentrações de osteocalcina nas amostras de soro foram obtidas através da fórmula $y = (A-D) / (1 + (x/C)^B) + D$. O intervalo de concentração utilizado para o teste foi de 1,6 a 2,8 ng/mL com limite mínimo de detecção de 0,45 ng/mL, sendo determinado por três vezes o valor do desvio, para o padrão zero. O coeficiente de variação obtido para a precisão do ensaio, descrito pelo fabricante foi de 8 a 10% para o *intra-assay* e 97,6 a 98% para o *inter-assay*.

Fosfatase Alcalina Óssea (FAO)

A FAO foi dosada utilizando o *MicroVue Osteocalcin EIA (enzyme immunoassay) kit* da QUIDEL® (USA, CA, San Diego), como indicador de atividade osteoblástica. O imunoensaio é um teste que utiliza um anticorpo monoclonal anti-

FAO como captura e adsorvidos à superfície dos alvéolos da microplaca de 96 orifícios. Este anticorpo monoclonal, adsorvido à placa, captura a FAO presente nas amostras de soro, padrão e controles sendo possível determinar a atividade da FAO com o substrato p-Nitrofenil fosfato (pNPP). Para isto, um volume de 20 µL de soro, controles e padrão adicionado, constituído por 125µL de tampão de ensaio foram acrescidos conjuntamente à placa. Após a retirada das amostras de soro, padrão e controles a placa foi então lavada quatro vezes com tampão de lavagem e adicionado 150 µL do pNPP. O desenvolvimento de cor ocorreu num período de 30-35 minutos a temperatura ambiente, a reação bloqueada com NaOH 0,5N e a leitura realizada em leitor de Elisa TP Reader, Thermo Plate, em comprimento de onda de 405 nm. A obtenção das concentrações de FAO nas amostras de soro foram obtidas através da fórmula $y = A+Bx+Cx^2$. O intervalo de concentração utilizado para o teste e montagem da curva padrão compreendeu concentrações entre 2 a 140 U/L. O limite mínimo de detecção para este ensaio fornecido pelo fabricante era de 0,7U/L, sendo determinado por três vezes o valor do desvio para o padrão zero. O coeficiente de variação obtido para a precisão do ensaio era de 3,9 a 5,8% para o *intra-assay* e 5,0 a 7,6% para o *inter-assay*.

Telopectídeo Carboxiterminal (s- CTX)

O s-CTX foi dosado pelo kit Elecsys β-CrossLAPS/ serum por eletroimunoquimioluminescência ou ECLIA em equipamento automatizado ELECSYS-ROCHE™. É um ensaio específico para isômeros interligados de fragmentos de colágeno do tipo I, independente de sua natureza. A especificidade do teste é garantida através do uso de dois anticorpos monoclonais, os quais reconhecem de forma linear os octapeptídeos β-8AA. Portanto a metodologia empregada quantifica a forma beta do ácido aspártico do telopeptídeos C-Terminais (β-CTX). Essas

dosagens foram realizadas pelo Centro de Doenças Osteometabólicas da UNIFESP (CEDOM).

3.13 Análise Estatística

Os dados foram armazenados e analisados no programa SPSS. Versão 15. Para a caracterização do grupo amostral foi realizada estatística descritiva média \pm desvio padrão, utilizando-se teste ANOVA seguida do teste de *Bonferroni* para localizar as diferenças. Considerou-se nível de significância mínimo de 5%.

Para explicar a variação das densidades nas regiões observadas com a idade óssea foram utilizados modelos de regressão linear admitindo resposta normal após verificação da normalidade por meio do teste de *Shapiro Wilk* e para estudar as demais variáveis com as densidades foi estipulada a correlação de *Spearman* (Anexo 08).

RESULTADOS

4. RESULTADOS

A seguir serão apresentadas as características gerais, da população de adolescentes avaliadas, relativas ao peso corporal, estatura, índice de massa corpórea, ingestão diária de cálcio, DMO para as regiões da coluna lombar, fêmur proximal e corpo total em g/cm^2 e os marcadores bioquímicos de remodelação óssea (FAO, OC e s-CTX) de acordo com as faixas etárias (FE) agrupadas da seguinte forma: 9 e 10 anos (FE1), 11 e 12 anos (FE2), 13 e 14 anos (FE3), 15 e 16 anos (FE4) e 17, 18 e 19 anos (FE5) (Tabela 1).

As médias observadas para peso, estatura, IMC, cálcio, DMO (coluna lombar, fêmur proximal e corpo total) foram crescentes das menores para as maiores idades. Em relação aos biomarcadores de remodelação óssea, tanto os de formação como o de reabsorção (FAO, OC e s-CTX) demonstraram um comportamento decrescente, sendo os maiores valores observados em FE1 e os menores em FE5, fase final da puberdade. Tal comportamento indicou que os valores dos marcadores bioquímicos de remodelação óssea foram inversamente proporcionais aos valores das demais características gerais antropométricas, nutricionais e de mineralização óssea das adolescentes estudadas.

As diferenças significativas foram detectadas para a variável peso, quando as adolescentes do grupo FE4 e FE5 diferiram dos grupos formados pelas mais jovens FE1 e FE2, para $p < 0,01$. Em relação a estatura, as diferenças estatísticas surgiram no grupo FE3 e se mantiveram em FE4 e FE5 que diferiram das médias das meninas do grupo FE1 e FE2. A variável IMC apresentou diferenças significativas, sendo que os valores de FE1 diferiram daqueles observados em FE4 e FE5. Salienta-se que, para serem incluídas no estudo, as adolescentes deveriam ter o IMC situando-se nos limites propostos e aceitos como normais, tendo suas portadoras a classificação de

crescimento adequado e com avaliação nutricional de eutrofia. Salienta-se que para o sexo feminino o IMC é diretamente proporcional às DMO, ou seja, quando o IMC aumenta as DMO também apresentam acréscimo.

Verificou-se que em relação a ingestão de cálcio, para todos os grupos estudados, a mesma variou de 489 ± 153 mg/dia a 652 ± 176 mg/dia, com média e desvio padrão de 566 ± 210 mg/dia, para o total da amostra.

Quando se analisou as DMO (coluna lombar, fêmur proximal e corpo total) as diferenças apareceram a partir dos grupos FE3, FE4 e FE5 que diferiram dos grupos FE1 e FE2 com $p < 0,01$ para as DMO de todos os sítios estudados, sendo que os valores observados para grupo FE3 foram intermediários (Figura 01).

Através de estudo de regressão linear (Anexo 08) a cada ano de acréscimo na idade cronológica observou-se um ganho na DMO da coluna lombar de $0,0574 \text{ g/cm}^2$, na DMO de fêmur proximal de $0,0592 \text{ g/cm}^2$ e na DMO de corpo total de $0,0654 \text{ g/cm}^2$.

Em relação aos biomarcadores de remodelação óssea, evidenciou-se diferenças significativas para todas as variáveis (FAO, OC e s-CTX) analisadas. Para todos os biomarcadores as médias observadas em FE1 e FE2 foram maiores do que aquelas obtidas em FE3, FE4 e FE5, para um $p < 0,01$. Para a FAO, as médias de FE3 foram superiores as obtidas em FE5. A FAO mostrou médias decrescentes do grupo FE1 ao grupo FE5, onde FE1 e FE2 diferiram significativamente das médias dos grupos FE3, FE4 e FE5. Ressalta-se que as medias obtidas em FE4 e FE5 não diferiram entre si. As médias obtidas para o biomarcador osteocalcina apresentaram comportamento semelhante ao observado para a FAO. A mesma tendência, de acordo com os grupos formados por FE, foi evidenciada quando o marcador ósseo analisado foi o s-CTX, para um $p < 0,01$ (Tabela 1). Médias mais elevadas de s-CTX foram observadas nas FE1 e FE2 que diferiram de FE3, FE4 e FE5 (Figura 03).

Tabela 1. Médias e desvios padrão de indicadores nutricionais, ingestão de cálcio, da mineralização óssea e biomarcadores de remodelação óssea entre os grupos de faixa etária -idade cronológica (n=72)

Variáveis	Grupos de Faixa Etária (anos)				
	FE1 (n =8)	FE2 (n =19)	FE3 (n =18)	FE4 (n =14)	FE5 (n =13)
Peso (kg)	34,48±7,13	42,27±7,26	49,30±6,78	53,55±6,52	56,49±6,78
Estatura (m)	1,39±0,06	1,50±0,08	1,61±0,05	1,60±0,05	1,64±0,05
IMC (Kg/m²)	17,35±2,26	18,54±2,34	18,88±1,97	20,93±2,47	20,86±1,93
Cálcio (mg/dia)	652,33±176,0	623,80±271,48	532,92±149,83	489,77±153,11	532,53±267,23
DMO^(g/cm²)(L1-L4)	0,631±0,04	0,698±0,08	0,865±0,12	0,902±0,11	0,944±0,12
DMO^(g/cm²)(Femur)	0,692±0,13	0,763±0,10	0,889±0,10	0,922±0,09	0,929±0,072
DMO^(g/cm²)(Total)	0,798±0,07	0,840±0,07	0,972±0,10	1,013±0,07	1,035±0,06
FAO U/L	114,08±39,4	110,12±31,64	69,78±41,25	37,88±13,31	31,07±12,99
OC(ng/mL)	33,75±19,68	26,49±2,58	9,15±7,56	6,18±4,08	4,98±3.3
s-CTX(ng/mL)	1,59±0,50	1,58±0,86	0,83±0,29	0,61±0,16	0,44±0,15

FE1-9-10 anos, 11m e 29d; FE2- 11-12anos, 11m e 29d; FE3- 13-14anos, 11m 29d, FE4- 15-16 anos, 11m e 29d; FE5-17-19anos, 11m e 29d. Valores expressos em média e dp.

Nota. Teste ANOVA seguida de *Bonferroni* indica as diferenças entre as faixas etárias (p<0,01)

Peso: FE1<FE4 e FE5; FE2<FE4 e FE5;p<0,001

Estatura: FE1<FE2,FE3,FE4 e FE5; FE2< FE3,FE4 e FE5;p<0,001

IMC: FE1< FE4 e FE5; p<0,001

Cálcio: p=0,407

DMO Coluna: FE1< FE3,FE4 e FE5; FE2<FE3,FE4 e FE5; p<0,001

DMO Fêmur: FE1<FE3, FE4 e FE5; FE2<FE3,FE4 e FE5;p<0,001

DMO corpo total: FE1<FE3,FE4 e FE5; FE2< FE3, FE4 e FE5; p<0,001

FAO: FE1> FE3, FE4 e FE5; FE2 > FE3,FE4 e FE5; FE3>FE5; p<0,001

OC: FE1>FE3, FE4 e FE5; FE2>FE3, FE4 e FE5; p<0,001

s-CTX: FE1> FE3, FE4 e FE5; FE2> FE3, FE4 e FE5; p<0,001

Na tabela 2, observa-se que as variáveis avaliadas, peso, estatura e IMC apresentam médias crescentes, de acordo com a evolução do desenvolvimento mamário. Entretanto, para peso e estatura, as medias de M4 e M5 não diferiram estatisticamente entre si e para o IMC, apenas as médias observadas em M1 diferiram estatisticamente daquelas obtidas em M4 e M5, com p<0,01. Em relação aos biomarcadores observa-se que, tanto as medias obtidas para a FAO, como para OC e s-CTX foram mais elevadas em M2 e M3, com valores menos expressivos em M4 e M5. Destaca-se ainda que, para estes indicadores do metabolismo ósseo, as médias observadas em M3 foram as mais elevadas, quando comparadas as demais médias obtidas para todos os estágios de desenvolvimento mamário (Figura 03).

Pode-se assinalar ainda que, na tabela 2, as médias para as DMO (Coluna Lombar, Fêmur Proximal e Corpo Total), de acordo com os 5 estágios puberais, apresentaram diferenças significativas, para um $p < 0,01$. De acordo com o Teste de *Bonferroni*, observou-se que os grupos M4 e M5 possuíam maiores médias de DMO em todos os sítios estudados e que as médias observadas em M3 foram intermediárias.

Tabela 2. Médias e desvios padrão de indicadores nutricionais, mineralização óssea e marcadores bioquímicos de remodelação óssea entre os grupos de nível maturacional (n=72)

Variáveis	Grupos Nível Maturacional				
	M1 (n =8)	M2 (n =8)	M3 (n =7)	M4 (n =28)	M5 (n =21)
Peso (kg)	33,72±7,602	40,78±6,862	45,75±7,983	49,82±6,982	53,62±7,865
Estatura (m)	1,42±0,010	1,45±0,100	1,54±0,085	1,60±0,065	1,61±0,055
IMC (Kg/m²)	16,40±11,50	19,18±2,66	18,81±2,18	19,32±2,03	20,64±2,34
DMO^(g/cm²)(L1-L4)	0,636±0,06	0,684±0,09	0,709±0,07	0,836±0,11	0,938±0,13
DMO^(g/cm²)(Femur)	0,661±0,06	0,715±0,10	0,832±0,12	0,897±0,09	0,909±0,11
DMO^(g/cm²)(Total)	0,766±0,05	0,827±0,08	0,867±0,05	0,971±0,08	1,019±0,08
FAO U/L	94,18±34,06	110,16±55,47	136,50±25,3	60,91±32,04	38,78±23,45
OC(ng/mL)	27.54±17,69	33,81±23,29	39,15±30,27	7,13±5,36	5,91±3,87
s-CTX(ng/mL)	1,584±0,370	1,66±0,846	1,88±0,818	0,695±0,314	0,562±0,236

Nota. Teste ANOVA seguida de *Bonferroni* indica as diferenças entre as faixas etárias ($p < 0,01$)

Peso: M1 < M3, M4 e M5; $p < 0,001$

Estatura: M1 < M4 e M5 ; M2 < M4 e M5; $p < 0,001$

IMC: M1 < M5 ; M1 < M4; $p < 0,001$

DMO Coluna: M1 < M4 e M5; M2 < M4 e M5; M3 < M5; M4 < M5; $p < 0,001$.

DMO Fêmur: M1 < M3, M4 e M5 ; M2 < M4 e M5; $p < 0,001$

DMO corpo total: M1 < M4 e M5; M2 < M4 e M5; M3 < M4 e M5. ; $p < 0,001$

FAO: M1 > M5; M2 > M4 e M5; M3 > M4 e M5; $p < 0,001$

OC: M1 > M4 e M5; M2 > M4 e M5; M3 > M4 e M5; $p < 0,001$

s-CTX: M1 > M4 e M5; M2 > M4 e M5; M3 > M4 e M5; $p < 0,001$

Na tabela 3, os dados referentes a peso, estatura, IMC e as variáveis relativas a mineralização óssea foram apresentadas de acordo com a maturação esquelética, baseada na obtenção da idade óssea pelo método GP. Verificou-se que as médias foram crescentes para todas as variáveis citadas. As diferenças significativas entre as

médias de peso e estatura surgiram quando o grupo com idade óssea relativa a 12 e 13 anos (IO2) diferiu do grupo composto por meninas de 10 e 11 anos de idade óssea (IO1). As diferenças se mantiveram para os grupos de 14 e 15 anos de idade óssea (IO3), 16 e 17 anos de idade óssea (IO4), 18 e 19 anos de idade óssea (IO5), que apresentaram médias superiores ao grupamento de 10 a 11 anos de idade óssea (IO1), no tocante a peso e estatura.

Em relação as DMO (coluna lombar, fêmur proximal e corpo total) as diferenças apareceram à partir de IO3 que diferiu dos grupos IO1 e IO2 com $p < 0,01$ para as DMO de todos os sítios estudados. As medias das DMO tiveram comportamento semelhante e foram crescentes dos grupos de menor IO em direção aos de maior IO (Figura 02).

Quanto aos biomarcadores de remodelação óssea observa-se diferenças significativas para todas as variáveis estudadas FAO, OC e s-CTX, quando apresentadas segundo a IO. Em relação a FAO, a OC e s-CTX observou-se que as médias obtidas em IO1 e IO2 diferiram das obtidas em IO3, IO4 e IO5, mostrando valores decrescentes que não diferiram estatisticamente em IO4 e IO5 (Figura 03).

Tabela 3. Médias e desvios padrão de indicadores nutricionais, mineralização óssea e marcadores bioquímicos de remodelação óssea entre os grupos de idade óssea (n=72)

Variáveis	Grupos Idade Óssea (anos)				
	IO1 (n =12)	IO2 (n =16)	IO3 (n =15)	IO4 (n =19)	IO5 (n =10)
Peso (kg)	34,96±7,04	44,03±6,38	49,31±6,96	53,49±6,59	55,73±6,68
Estatura (m)	1,42±0,10	1,51±0,07	1,61±0,05	1,61±0,05	1,63±0,04
IMC (Kg/m²)	17,15±1,61	18,97±2,54	18,86±2,03	20,57±2,21	20,76±2,05
DMO^(g/cm²)(L1-L4)	0,646±0,08	0,709±0,08	0,860±0,11	0,907±0,10	0,960±0,14
DMO^(g/cm²)(Femur)	0,667±0,07	0,796±0,10	0,895±0,11	0,942±0,09	0,904±0,05
DMO^(g/cm²)(Total)	0,781±0,06	0,862±0,06	0,983±0,09	1,019±0,07	1,026±0,06
FAO U/L	108,59±31,41	114,91±42,15	66,54±33,13	39,59±13,55	23,88±5,45
OC(ng/mL)	36,87±26,61	21,70±19,74	17,37±6,60	5,72±2,79	5,97±4,5
s-CTX(ng/mL)	1,847±0,58	1,381±0,77	0,773±0,22	0,567±0,20	0,440±0,14

IO1- 10-11 anos, IO2-12-13 anos, IO3-14-15 anos, IO4-16-17anos, IO5-18-19anos
Nota. Teste ANOVA seguida de *Bonferroni* indica as diferenças entre as faixas etárias (p<0,01)

Peso: IO1< IO2,IO3,IO4 e IO5; IO2< IO4 e IO5;p<0,001

Estatura: IO1<IO3, IO4 e IO5; IO2< IO3,IO4 e IO5; p<0,001

IMC: IO1< IO4 e IO5; p<0,001

DMO Coluna: IO1<IO3, IO4 e IO5; IO2< IO3, IO4 e IO5; p<0,001

DMO Fêmur: IO1< IO2, IO3, IO4 e IO5; IO2< IO3 e IO4; p<0,001

DMO corpo total:IO1< IO3, IO4 e IO5; IO2< IO3, IO4 e IO5; p<0,001.

FAO: IO1> IO3, IO4 e IO5 ; IO2 > IO3, IO4 e IO5; IO3> IO5; p<0,001

OC: IO1> IO3, IO4 e IO5; IO2> IO4; p<0,001

s-CTX: IO1> IO3, IO4 e IO5; IO2> IO3, IO4 e IO5; p<0,001

Na tabela 04 foi observada a Correlação de *Spearman* entre as DMO (coluna lombar, fêmur proximal e corpo total) e os biomarcadores de remodelação óssea (FAO, OC e s-CTX) de acordo com as idades óssea e as faixas etárias agrupadas em anos .

Observou-se uma correlação significativa e positiva entre as DMO (coluna lombar, fêmur proximal e corpo total) tanto para IO como para FE, indicando que quanto mais maduras eram as adolescentes, maiores foram suas DMO. Em relação aos biomarcadores de remodelação óssea a correlação apresentou-se significativa, porém negativa, apontando que quanto mais amadurecidas as adolescentes avaliadas, menores foram os valores dos biomarcadores ósseos (Anexo 07).

Tabela 4. Correlação de Spearman entre DMO (Coluna Lombar, Fêmur Proximal e Corpo total), Marcadores Bioquímicos (FAO, OC e s-CTX) em relação a IO e Idade cronológica.

	Idade Óssea	Idade Cronológica
DMO^(g/cm²)(L1-L4)	0,760(p<0,001 ^{**})	0,754(p<0,001 ^{**})
DMO^(g/cm²)(Femur)	0,652(p<0,001 ^{**})	0,605(p<0,001 ^{**})
DMO^(g/cm²)(Total)	0,789(p<0,001 ^{**})	0,766(p<0,001 ^{**})
FAO U/L	-0,831(p<0,001 ^{**})	-0,822(p<0,001 ^{**})
OC(ng/mL)	-0,482(p<0,001 ^{**})	-0,552(p<0,001 ^{**})
s-CTX(ng/mL)	-0,812(p<0,001 ^{**})	-0,769(p<0,001 ^{**})

^{**} Estimativa da correlação linear de Spearman

Na tabela 5 analisou-se o coeficiente de correlação entre os biomarcadores de remodelação óssea e as DMO (coluna lombar, fêmur proximal e corpo total). Observou-se que em todos os sítios estudados os maiores valores das DMO se correlacionaram aos menores valores dos biomarcadores de remodelação óssea, indicando uma correlação significativa, porém negativa.

Tabela 5. Coeficientes de Correlação entre os biomarcadores ósseos e indicadores da mineralização óssea nas regiões da coluna lombar (L1-L4), fêmur proximal e corpo total

	s-CTX (ng/mL)	OC (ng/mL)	FAO (U/L)
DMO Coluna^(g/cm²)	-0,627 (p=0,001 [*])	-0,367 (p=0,002 [*])	-0,696 (p=0,001 [*])
DMO Fêmur^(g/cm²)	-0,644 (p=0,001 [*])	-0,334 (p=0,005 [*])	-0,519 (p=0,001 [*])
DMO Total^(g/cm²)	-0,695 (p=0,001 [*])	-0,425 (p=0,001 [*])	-0,655 (p=0,001 [*])

^{*}Indica correlações significativas

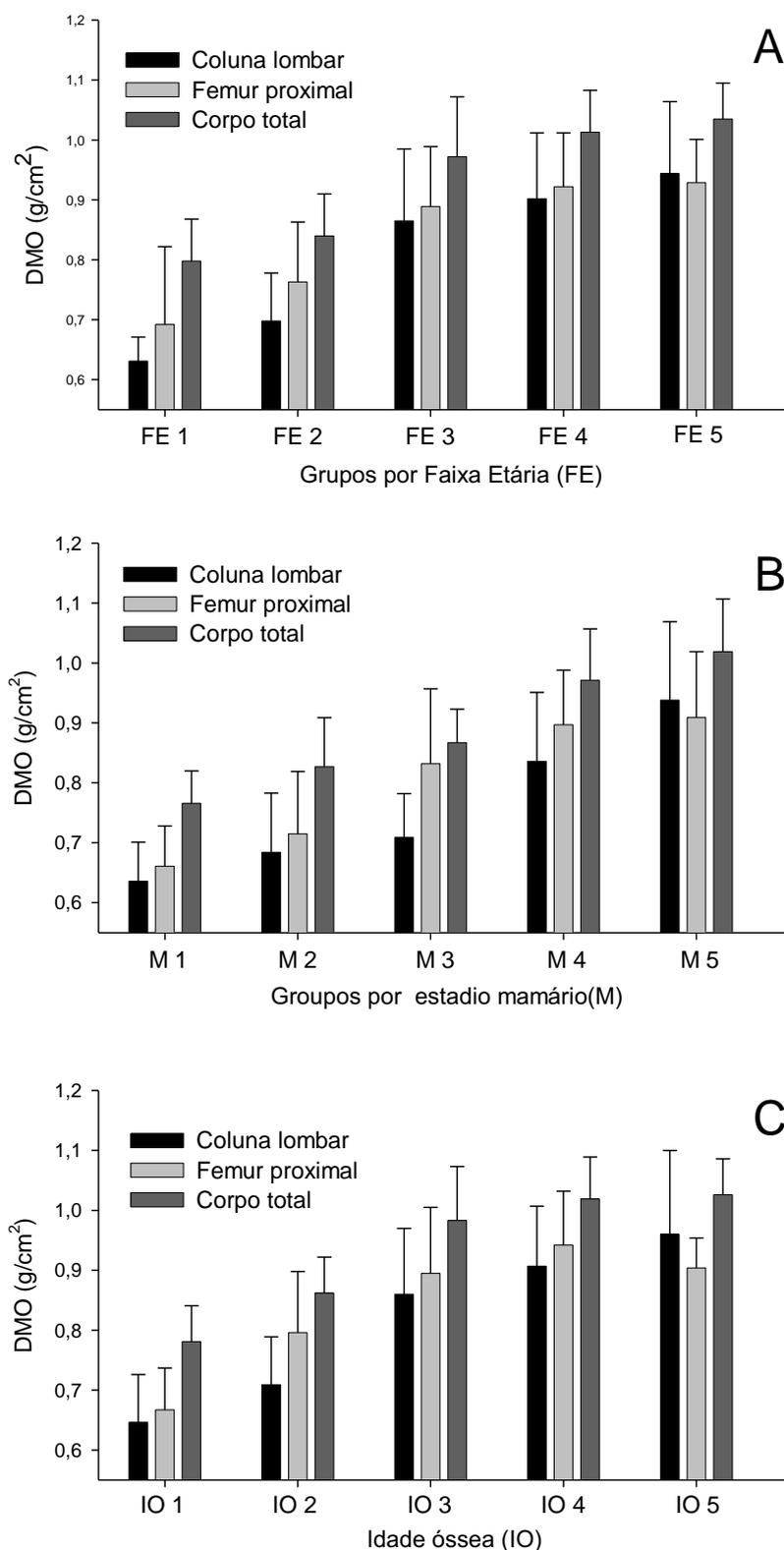


Figura 2 - Representação gráfica das médias e desvios padrão das DMO da coluna lombar, fêmur proximal e corpo total em g/cm² segundo as faixas etárias (A), nível maturacional de desenvolvimento mamário (B) e idade óssea (C).

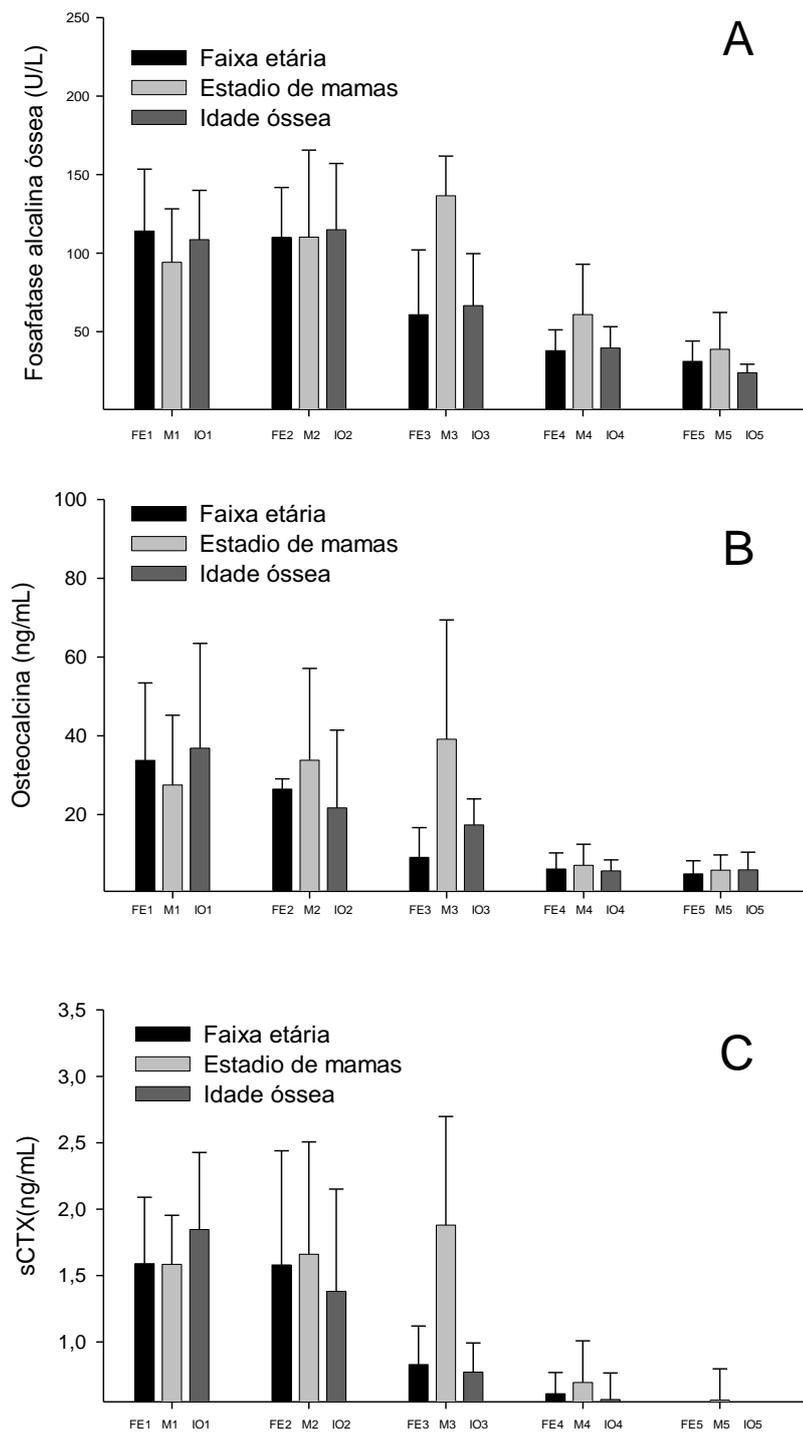


Figura 3– Média e Desvio-padrão da fosfatase alcalina óssea (A), osteocalcina (B) e s-CTX (C) segundo grupos de faixa etária, nível maturacional e idade óssea.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

O estudo e a compreensão da mineralização óssea têm ganho espaço crescente na literatura científica pediátrica, pois caso crianças e adolescentes não alcancem de forma adequada seu pico de massa óssea, pouco após o final desta fase da vida, certamente estarão sujeitos a desenvolver osteopenia/ osteoporose na vida adulta (BAILEY et al., 2000; CHENG et al., 2005, OLIVEIRA, 2011).

O tema é relevante, pois a osteoporose é hoje considerada um importante problema de saúde pública, atingindo indiscriminadamente populações residentes em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Com o aumento da expectativa de vida da população mundial, torna-se altamente desejável que os profissionais da saúde, que lidam com crianças e adolescentes, incorporem cuidados preventivos que garantam para a geração atual, e também para as futuras, uma vida mais saudável e com cuidados que contribuam para uma melhor qualidade de vida.

Nos Estados Unidos, a osteoporose acomete 55% dos indivíduos acima de 50 anos e é responsável por cerca de 1,5 milhão de fraturas ao ano, com um custo aproximado de 18 bilhões/ano, montante este despendido para que tais indivíduos sejam capazes de sobrepujar estes agravos e voltem a ter uma vida digna quanto à recuperação de sua mobilidade (GOLDBERG, 2006; NHANES, 2007; NOF, 2007). A literatura divulga que metade das mulheres e um quarto dos homens acima de 50 anos apresentam fraturas por fragilidade óssea, decorrentes das alterações da microarquitetura óssea, conseqüentes da osteoporose. As previsões atuais indicam que, em função dos pontos assinalados, haverá um aumento significativo desses percentuais no ano de 2050 em praticamente todos os países.

Assim, cientes dos potenciais riscos aos quais crianças e púberes se expõem nos próximos decênios, alguns dados básicos sobre o metabolismo ósseo serão

disponibilizados neste texto para que haja a possibilidade de interferência no ganho de massa óssea, como possível profilaxia ao desenvolvimento de osteopenia-osteoporose na adultícia. Para tanto, faz-se necessária uma apresentação inicial sobre alguns aspectos que descrevem a puberdade.

A adolescência é uma etapa intermediária do desenvolvimento humano, entre a infância e a fase adulta. Este período é marcado por diversas transformações corporais, hormonais e até mesmo comportamentais. Estas transformações possibilitam o completo crescimento, desenvolvimento e maturação do indivíduo, assegurando a capacidade de reprodução e preservação da espécie. A Organização Mundial da Saúde (OMS, 1995) define a adolescência como o período que compreende o recorte etário de 10 a 20 anos de idade.

O crescimento e desenvolvimento são eventos geneticamente programados, da concepção ao amadurecimento completo, porém fatores inerentes ao próprio indivíduo e outros representados por circunstância ambientais podem induzir modificações nesse processo (SAITO, 1989).

A puberdade é considerada a etapa inicial ou biológica da adolescência, caracterizada pelas transformações físicas e biológicas que se exteriorizam no corpo de meninos e meninas. É durante esta fase que ocorrem mudanças nas características sexuais primárias e secundárias, que proporcionarão aos indivíduos a capacidade da genitalidade. Na puberdade ocorrem transformações em relação ao crescimento, verifica-se a aceleração da velocidade de crescimento em altura e peso, representando o estirão pubertário.

Marcondes e colaboradores (1982) publicaram amplo estudo denominado "Crescimento e Desenvolvimento Pubertário em Crianças e Adolescentes Brasileiros", realizado no município de Santo André (SP) e outros municípios que com ele faziam

limite, para que atingissem uma amostra de 6794 estudantes, dos quais 3378 pertenciam ao sexo feminino, representadas em quatro classes sócioeconômicas. Os autores analisaram as curvas de crescimento destas mesmas meninas, determinando que o pico máximo de velocidade instantânea ocorria por volta dos 11,3 anos, para aquelas pertencentes às classes de nível sócioeconômico mais elevado. A literatura divulga que num período de três anos adolescentes do sexo feminino e masculino podem incorporar 17 a 18% de sua estatura final adulta (ABASSI,1999), sendo que no sexo feminino o pico máximo de crescimento (PHV) costuma ocorrer em média seis meses antes da menarca (BIRO et al., 2006).

Nesta etapa da vida ocorrem ainda mudanças na composição corporal, com evidente aumento da massa de gordura nas meninas e da massa muscular nos meninos e nas alterações das proporções e relações corporais que caracterizam os gêneros.

As mudanças da composição corporal da adolescente se correlacionam com sua maturação sexual. Neste período elas apresentarão um incremento de praticamente 89% em sua massa de gordura, quando avaliada pela área de gordura do braço, incremento este obtido dos 10 aos 20 anos de idade, o que representa percentualmente a quinta parte de seu peso corporal, composto de tecido gorduroso (GOLDBERG et al., 1996), ou ao redor de 16kg, quando elas atingem 16 anos (SIEVORGEL et al., 2003). A idade da menarca coincide com o início da desaceleração de crescimento, que ocorre ao final do estirão pubertário, momento concomitante com o grande acúmulo de tecido adiposo. Para os meninos, o pico de crescimento estatural coincide com a fase adiantada do desenvolvimento de genitais (G) e pilosidade pubiana (P), segundo os critérios de Tanner (MARSHALL; TANNER, 1986), momento reconhecido como G4- P4, em que também ocorre desenvolvimento

acentuado de massa magra e muscular (GOLDBERG, 1989, SAITO,1993, SILVA; GOLDBERG, 2006).

A OMS recomenda a utilização de pelo menos dois eventos pubertários na avaliação da maturação para cada sexo, um reconhecido como marcador inicial do estirão do crescimento e o outro a indicar que a velocidade máxima de crescimento já ocorreu. Para o sexo feminino, o marcador inicial do estirão do crescimento é a presença do broto mamário, estágio M2 de mamas, pelos critérios de Tanner (MARSHALL; TANNER, 1970) e, para indicar que a velocidade máxima já ocorreu, a presença da menarca. Já para os meninos, o marcador inicial do estirão é o aumento do volume testicular, acompanhado de mudanças da bolsa escrotal e discreto aumento do comprimento peniano, sendo algumas destas evidências relacionadas ao estágio G2 e outras ao G3 dos critérios de Tanner (MARSHALL; TANNER, 1970) e para indicar a velocidade máxima, o estágio 4 ou 5 de genitália ou a mudança de voz (OMS, 1995).

É nesta fase da vida, reconhecida como estirão pubertário, excetuando-se o primeiro ano de vida, em que os indivíduos mais crescem (WILSON et al., 1998). O crescimento máximo em estatura, num período de 12 meses, pode alcançar em média 9,5cm/ano no sexo masculino e 8,3cm/ano no sexo feminino. Geralmente, a aceleração do crescimento no sexo feminino acontece nas fases iniciais da puberdade, entre os estágios 2 e 3 de Tanner para mamas e pelos pubianos. À medida que todas estas mudanças corporais se apresentam, elas são acompanhadas por importantes alterações do *turnover* ósseo, que se evidencia durante a puberdade, com mudanças exponenciais no ganho de massa óssea. A mineralização óssea caracteriza-se por um processo cíclico de formação e reabsorção cujo equilíbrio se modifica ao longo da vida, sendo que, no período da infância e adolescência ocorre predomínio de formação óssea sobre a reabsorção, na idade adulta ambos os processos se estabilizam e a

partir dos 45 a 50 anos, principalmente no sexo feminino, ocorre o predomínio da reabsorção (KHAN et al., 2001).

Por ser uma fase em que ocorre um aumento importante da massa óssea, a adolescência pode ser a época mais sensível às influências externas, tais como alimentação e exercícios físicos, que atuam fortemente sobre esta incorporação. Assim, a modulação óssea está fortemente relacionada com o tamanho corporal expresso pelo peso (YILMAZ et al., 2005), pelo conteúdo de massa muscular e de gordura, com a carga mecânica imposta ao sistema esquelético, com as alterações hormonais, ambientais, nutricionais e genéticas (BANFI et al., 2010).

O osso apresenta-se em constante transformação, que segundo Bar-Or (1996) pode ser subdividida em três processos: crescimento, modelação e remodelação. O crescimento compreende o desenvolvimento de toda estrutura esquelética, tanto na largura quanto no comprimento, fenômeno controlado principalmente pelo sistema endócrino. O desenvolvimento longitudinal é a característica principal do processo de crescimento, que é inibido pela redução dos espaços epifisários, evento especialmente verificado nos ossos longos. Por sua vez, a modelação é responsável pelo aumento da resistência e pelo ganho de massa óssea. A remodelação tem como principal função a reparação de microfraturas ocorridas no dia a dia, que por um contínuo ciclo de destruição e posterior renovação óssea, mediado pela ativação dos osteoclastos responsáveis pela reabsorção óssea e a seguir, pela ação mediada pelos osteoblastos. O ciclo conduz à reconstrução da matriz óssea, levando à nova mineralização do tecido (BAR-OR, 1996).

Segundo Matsudo & Matsudo (1991), entende-se por pico de massa óssea o maior valor de massa óssea ou máxima quantidade de osso que um indivíduo alcança quando o esqueleto está totalmente mineralizado ou consolidado. Até o momento não

se afirma com exatidão qual seria o período, a idade biológica ou cronológica em que ocorre o pico de massa óssea, embora haja indícios de que ele possa ocorrer ao final da adolescência. Gilsanz e colaboradores (1988) também encontraram significativo aumento da densidade mineral óssea durante a puberdade em meninos e meninas, sendo que os valores alcançados permaneceram estáveis mesmo após o final da adolescência, o que indica que um possível pico de massa óssea tenha sido obtido logo no início da idade adulta. Em trabalho realizado por Boot e colaboradores (2010) com inclusão de 501 participantes, dos quais 360 eram meninas de 13 a 19 anos, os autores observaram que o pico de massa óssea tanto na região lombar quanto aquele observado em corpo total foi obtido entre 18 e 20 anos nas representantes do sexo feminino. Silva e colaboradores (2006, 2007) e Oliveira e colaboradores (2011), em estudos realizados na cidade de Botucatu (SP) avaliando estudantes pertencentes à classe sócioeconômica elevada, verificaram que os valores das médias das DMO em todos os locais avaliados, utilizando-se da densitometria óssea obtida pelo DXA em coluna lombar, fêmur proximal e corpo total, foram crescentes de acordo com as faixas etárias estudadas, segundo a maturação esquelética avaliada pela idade óssea e de acordo com os eventos pubertários, avaliados pelos caracteres sexuais secundários, tanto de meninos como de meninas. Pode-se destacar que os menores valores de DMO foram observados aos 9 e 10 anos de idade e as maiores médias a partir dos 17 anos sendo considerados como períodos críticos para o processo de mineralização óssea a faixa etária de 13 a 14 anos para elas e de 13 a 15 anos para eles, quando elas se encontravam no estágio M3 de mamas e eles no estágio G4. Ressalta-se que nestes períodos evolutivos as diferenças estatisticamente significativas foram evidentes em todos os sítios avaliados.

Em continuação a estes estudos, o grupo de pesquisadores envolvidos no estudo da densidade mineral óssea e na modelação e remodelação ósseas optaram por aumentar o N amostral relativo ao sexo feminino e assim, 72 meninas foram avaliadas no presente trabalho, as quais completaram todos os passos determinados como preconizado na descrição dos métodos e assim se enquadrando nos rígidos critérios de inclusão e exclusão propostos.

O presente estudo demonstrou a necessidade da interpretação dos indicadores de massa óssea, relacionando-os à análise cronológica, pois esta englobaria indivíduos com grandes variações de seus indicadores antropométricos, situação já evidenciada em outros estudos, uma vez que indivíduos de mesma idade poderiam apresentar-se em níveis maturidade extremamente diversos. Assim, optou-se também por analisá-los segundo os eventos pubertários e pelo estudo da idade óssea, numa tentativa de agrupá-los de forma mais homogênea, facilitando a compreensão dos processos envolvidos na incorporação da massa óssea durante a puberdade, de acordo com estas variáveis.

O comportamento relativo à DMO avaliada nos três locais (coluna lombar, fêmur proximal e corpo total) foi semelhante ao apresentado por Oliveira et al. (2011), ocorrendo incremento importante das menores faixas etárias (9 e 10 anos) em direção às maiores (17 a 20 anos incompletos). Segundo as análises estatísticas utilizadas as diferenças significativas foram observadas quando as adolescentes atingiam 13 a 14 anos de idade cronológica, se apresentavam em estágio M3 de mamas e tinham idade óssea compatível com 12 a 13 anos. Estes resultados reforçaram os apresentados anteriormente por Oliveira et al. (2011), revelando uma janela de oportunidades quanto ao ganho de massa óssea nos períodos maturacionais citados. Resta salientar que pelo estudo de regressão linear se constatou um acréscimo constante nas DMO nos

três locais avaliados, coluna lombar, fêmur proximal e corpo total. A cada ano de idade cronológica foram incorporados respectivamente de 0,0574 gm², 0,0592g/cm² e 0,0654g/cm², em cada um dos sítios analisados.

Diante destas constatações depreende-se que a melhor forma de prevenir a osteoporose senil seria através da otimização do ganho de massa óssea na infância e na adolescência (JANZ, 1990; CROMER; HAREL, 2000; SPECKER, 2002). Cita-se que seriam dois os principais mecanismos que determinariam uma estrutura óssea saudável na idade adulta: a maximização do pico de massa óssea na infância e a menor taxa de perda óssea com o avançar da idade. Em suma, a literatura é clara em concordar que a otimização do pico de massa óssea possível de ser alcançado durante a adolescência é um importante, se não o principal, fator preventivo para a não manifestação da osteoporose senil (CROMER; HAREL, 2000).

Sabe-se que a utilização de tecnologia sofisticada como o DXA nem sempre está disponível em todos os serviços de saúde das mais remotas comunidades. Entretanto, recomenda-se sua utilização acrescida de outras técnicas menos onerosas e de rápida aplicação, que favoreceriam a avaliação e a compreensão do incremento da massa óssea na faixa etária estudada (JÜRIMÄE et al .,2010).

Deste modo, no presente estudo avaliamos o desenvolvimento da massa óssea pelo DXA como fartamente documentado e completamos a avaliação utilizando alguns marcadores ósseos de formação e reabsorção, o que nos possibilitou compreender os mecanismos envolvidos no ganho de massa óssea deste recorte etário.

Quanto aos marcadores bioquímicos de remodelação óssea, seu emprego será mais difundido na prática clínica à medida que melhor conhecermos suas vantagens, uma vez que são mais sensíveis e revelam com melhor acurácia as mudanças do metabolismo ósseo e podem ser repetidos a intervalos menores do que

os métodos radiológicos quantitativos até o momento muito utilizados. Além disto, os biomarcadores podem ser facilmente obtidos, entretanto sua análise e interpretação ainda traz algumas dificuldades que devem ser transpostas. Em consequência a isso, como desvantagens citadas, a literatura apresenta uma grande variabilidade biológica (BANFI et al., 2010). É consenso na literatura científica que nas mulheres pós menopausa, os marcadores tendem a elevar-se e são observados valores mais importantes entre os marcadores de reabsorção quando confrontados com os de formação. Em estudos prospectivos realizados com mulheres na pós-menopausa, a constatação de aumento nos resultados dos marcadores de reabsorção duplicou o risco de fraturas (BROWN et al., 2009). Em outras fases do ciclo vital feminino, como durante a gravidez e o período de lactação, o metabolismo ósseo também é mais acelerado, resultando em aumento tanto dos níveis dos marcadores de formação como dos de reabsorção (SOWERS et al., 1995)

O processo de remodelação óssea se desenvolve com base em dois processos antagônicos, porém acoplados: a formação e a reabsorção óssea. O acoplamento dos dois processos é mantido em longo prazo por um complexo sistema de controle. Uma série de condições como: idade, mobilidade diminuída, ação de algumas drogas, baixo consumo de cálcio, doenças osteometabólicas, entre outros fatores, podem alterar este equilíbrio, levando ao predomínio de um sobre o outro, com consequências metabólicas (hiper ou hipocalcemia) e/ou mecânicas (osteoporose)(VIEIRA, 1999; SOYKA et al., 2000; FARES et al., 2003).

Como a formação óssea é dependente da ação dos osteoblastos, os marcadores de formação na realidade sinalizam produtos decorrentes da ação destas células. Da mesma maneira, os marcadores de reabsorção avaliam a ação dos

osteoclastos, que são o principal tipo celular envolvido na reabsorção da matriz óssea (MORA et al., 1999).

Em estudo envolvendo adolescentes do sexo feminino entre 11 e 14 anos, realizado nos Estados Unidos, foi observado um aumento significativo na formação óssea com concomitante aumento da osteocalcina (OC) e da fosfatase alcalina óssea (FAO), reconhecidas como marcadores ósseos de formação, o que sugere que este seja o período de maior incremento ósseo entre adolescentes (WEAVER et al., 1996). Os níveis de OC e da FAO tem pouca correlação entre si, uma vez que representam diferentes momentos da atividade óssea (VAN COEVERDEN et al., 2002).

Quando avaliamos os biomarcadores de reabsorção óssea, notamos que algumas pesquisas sugerem que o fragmento telopeptídeo C-terminal (s-CTX) apresenta grande sensibilidade e especificidade para o colágeno tipo I. Van Coverden e colaboradores (2002) dosaram a deoxipiridinolina e o s-CTX em urina e no soro, apontando o s-CTX como o biomarcador de reabsorção óssea que melhor se relaciona com a massa óssea. Concentrações elevadas de s-CTX são encontradas em pacientes com reabsorção óssea aumentada. O s-CTX é utilizado para monitoramento da eficácia da terapia com antireabsortivos ósseos, empregados no controle da osteoporose ou de outras doenças ósteometabólicas (SARAIVA; LAZARETTI-CASTRO 2002; BARONCELLI et al., 2005; CREMERS; GARNERO, 2006; RAUCHENZAUNER et al., 2007).

Assim, é possível antever que quando os indivíduos apresentam uma evolução de sua infância e puberdade dentro dos padrões considerados normais e se possíveis condições passíveis de interferir no seu metabolismo ósseo não os estão afetando, os marcadores de formação óssea se encontram proporcionalmente mais ativos durante

as duas primeiras décadas de vida do que os de reabsorção. Alguns determinantes importantes para a remodelação óssea como fatores genéticos, idade, os caracteres sexuais secundários que representam a visibilidade da evolução pubertária e os fatores que atuam no estilo de vida, como nutrição e exercícios físicos, podem alterar seus valores, mesmo durante a trajetória evolutiva da adolescência (FARES et al., 2003). Por conseguinte, doenças ósseas alteram o padrão de produção dos marcadores bioquímicos, doenças que levam à redução da massa óssea tendem a aumentar a relação entre marcadores de reabsorção e os de formação, como é o caso da osteopenia/osteoporose.

No presente estudo, os resultados relativos à avaliação dos biomarcadores ósseos denotam similaridade com dados divulgados na literatura especializada pois, o comportamento dos marcadores bioquímicos de remodelação óssea no, período que compreende os primeiros anos da adolescência, revela que nesta fase da vida o crescimento físico e o incremento de massa óssea são intensos e rápidos desacelerando gradativamente após o período que representaria o estágio G4 para os meninos e M3 de desenvolvimento mamário, para as meninas (VAN COEVERDEN et al 2002, GOLDBERG et al., 2010).

Observamos em nosso estudo que existe uma correlação significativa embora negativa entre os biomarcadores de remodelação óssea e os grupos de FE e IO e que o mesmo ocorre em relação ao estudo de correlação entre a DMO nos três locais avaliados e os biomarcadores de remodelação óssea. Tais evidências revelam existir um comportamento inversamente proporcional entre os marcadores de remodelação e algumas variáveis que representam o tempo e a maturação da massa óssea. Assim, embora as médias das DMO nos três sítios analisados aumentem com o progredir dos eventos maturacionais DMO-L1-L4 (M1=0,636g /cm²; M2= 0,684 g /cm²;M3= 0,709 g

g/cm^2 ; M4= 0,836 g/cm^2 ;M5= 0,938 g/cm^2), DMO Fêmur (M1=0,661 g/cm^2 ;M2=0,715 g/cm^2 ;M3=0,832 g/cm^2 ;M4=0,897 g/cm^2 ;M5=0,909 g/cm^2)e DMO Corpo Total (M1=0,766 g/cm^2 ;M2=0,827 g/cm^2 ;M3=0,867 g/cm^2 ;M4=0,971 g/cm^2 ;M5=1,019 g/cm^2), pode-se verificar que os valores dos três biomarcadores se reduzem nas idades finais da adolescência, a partir dos 15 aos 16 anos FE4 (FAO 60,91 U/L; OC 6,18 ng/ml; s-CTX 0,695 ng/mL) e FE5 (FAO 31,07 U/L; OC 4,98 ng/mL; s-CTX 0,440 ng/mL).

Como assinalado, os menores valores das concentrações dos biomarcadores, avaliados no sexo feminino, foram verificados no final da puberdade, M5 (FAO 38,78 U/L; OC 5,91 ng/mL; s-CTX 0,562 ng/mL), comportamento também apontado por outros autores, que referiam que aos 18 anos os valores se assemelhavam aos verificados em adultos (VAN COEVERDEN et al., 2002; WALSH et al., 2008).

Tuchman e colaboradores (2008) observaram correlação entre os biomarcadores ósseos e o pico de velocidade de crescimento (PHV), destacando um paralelismo entre a elevação dos marcadores e a velocidade de crescimento. Apesar desta seqüência, esses autores destacavam que as DMO ainda progrediram em sua ascensão nas idades seguintes, tendo incremento máximo, segundo Harel e colaboradores (2007), nos anos que envolvem a menarca, momento em que as meninas já estariam em desaceleração do crescimento. Como apontado, esta evolução também foi constatada através de nossos dados. Na seqüência, finalmente, será atingido o pico de massa óssea, momento em que a velocidade de crescimento se reduz, pois a estatura final destas adolescentes foi praticamente alcançada quando atingem o desenvolvimento mamário M4- M5. Como anteriormente assinalado, o pico máximo de crescimento (PHV) ocorre concomitantemente ou pouco após o estágio M3 de desenvolvimento mamário, comportamento concordante com aquele evidenciado

para os marcadores ósseos, quando os maiores valores foram observados nesse estágio de desenvolvimento, reforçando a relação entre estes eventos e fatores hormonais envolvidos nesses processos. Nessa perspectiva, van Coeverden et al.(2002) e Yilmaz et al. (2005), avaliaram a magnitude da relação entre o *turnover* ósseo, analisado pelos níveis de alguns biomarcadores ósseos e o pico máximo de crescimento (PHV), avaliando os níveis dos esteroides sexuais, do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (*insulin-like growing factor*, IGF-1) e da proteína ligadora 3 (*insulin-like growth factor binding protein 3*, IGF-BP-3).

Diante destas considerações e dos fatores que atuam sobre essas variáveis, é possível compreender a alta correlação evidenciada, pelo estudo estatístico entre os biomarcadores ósseos e as densidades minerais ósseas, que apresentaram valores significantes e negativos.

Yilmaz e colaboradores (2005) avaliaram 91 púberes do sexo feminino de 11 a 15 anos e 83 adolescentes do sexo masculino da mesma faixa etária, estudantes da Turquia. Seus critérios de inclusão, apesar de bastante precisos, não foram tão rígidos e restritos como os nossos, pois determinamos que não seriam incluídas em nosso estudo as adolescentes que apresentassem qualquer doença, inclusive as do metabolismo ósseo, assim como aquelas que também fossem prematuras, tivessem baixo peso, as que utilizassem anticoncepcionais, aquelas anteriormente ou atualmente grávidas, que tivessem alteração de suas avaliações nutricionais e antropométricas ou, vinculadas à prática excessiva de exercícios físicos.

Esses autores além de avaliar a DMO em coluna lombar e corpo total, dosaram os marcadores ósseos de formação (OC e FAO) e avaliaram os níveis de estradiol e testosterona em ambos os sexos. Entre as meninas, seus resultados evidenciaram que

as médias de DMO de coluna lombar e corpo total não diferiram significativamente quando elas alcançavam os estágios pubertários 4 e 5 de Tanner. O máximo incremento nas DMO ocorreu no estágio pubertário 3, resultados que foram corroborados pelos apresentados nesse estudo. Esses autores observaram que, para o sexo feminino, no estudo da OC, as médias foram mais elevadas no estágio 3 de Tanner, decrescendo em direção ao final da puberdade. Quanto à FAO, este comportamento não foi tão expressivo, mas destacam que os valores provenientes da média puberdade foram superiores ao da puberdade final, com diferenças significativas no sexo feminino ($p < 0,001$). Ainda apontaram a correlação significativa e negativa entre as DMO e os marcadores avaliados, resultados corroborados por nosso estudo.

Como recomendação Yilmaz e colaboradores (2005) sugeriram que, deveriam ser realizados estudos longitudinais que avaliassem a curva de velocidade de crescimento e os valores máximos encontrados para os marcadores de formação, confirmando o paralelismo observado indiretamente entre essas variáveis em seu estudo transversal.

CONCLUSÃO

6-CONCLUSÃO

Nosso estudo demonstrou, através dos resultados advindos da análise dos biomarcadores, mudanças na remodelação óssea ocorridas no decorrer da segunda década de vida, revelando que, os valores dos marcadores são elevados nos primeiros anos da adolescência no sexo feminino e diminuem significativamente com o avançar da idade. Sua análise correlacionada aos valores das DMO, que representam a incorporação da massa óssea, indicam um comportamento inversamente proporcional pois, quanto maiores os resultados das DMO menores os valores dos biomarcadores de formação e reabsorção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

Banfi G, Lombardi G, Colombini A, Lippi G. Bone metabolism markers in sports medicine. Sport Med. 2010 ;40(8):697-714.

Bar-or, O. The child and adolescent athlete. Oxford: Blackwell Science, 1996.

Bassey, E.J.; Ramsdale, S.J. Increase in femoral bone density in young women following high impact exercise. Osteoporos ,International, 1994. v.4, p.72-75.

Baroncelli GI, Bertelloni S, Sodini F, Saggese G. Osteoporosis in children and adolescents [review]. Paediatr Drugs 2005; 7(5):295-323.

Biro, FM, Huang, B, Crawford, PB, Lucky, AW, et al. Pubertal correlates in black and white girls. J Pediatr 2006; 148:234.

Boot AM, Ridder MAJD, van der Sluis IM, van Slobbe I, Krenning EP, Keizer-Schrama SMPFD. Peak bone mineral density, lean body mass and fractures. Bone 2010; 46: 336-41

Brandão CMA. Avaliação da densidade mineral óssea durante a puberdade, em crianças normais de São Paulo. Influência de fatores antropométricos, composição corporal e do SDHEA na massa óssea [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1999.

Brown JP, Albert C, Nassar BA, Adachi JD, Cole D, Davison KS et al. Bone turnover markers in the management of postmenopausal osteoporosis. Clin Biochem. 2009; 42:929-42.

Camargo MBR, Cendoroglo MS, Ramos LR, Latorre MRDO, Saraiva GP, Lage A, et al. Bone mineral density and osteoporosis among a predominantly Caucasian elderly population in the city of São Paulo, Brazil. Osteoporose Int (2005) 16: 1451-1460.

Campos LMMA, Liphaut BL, Silva CAA. Osteoporose na infância e adolescência. Pediatria (São Paulo) 2004;26(3):137-9.

Gussinyé M, Carrascosa A, Yeste D, del Río L. Bone mineral density in nursing infants and young children (0-4 years old) at the level of the lumbar spine. The normal patterns].An Esp Pediatr. 1998 Sep;49(3):248-52.

Castro ML, Eis SR, Marques Neto JF. A prevenção da osteoporose levada a sério: uma necessidade nacional. Arq Bras Endocrinol Metab 2008;52/4.

Center for Disease Control and Prevention. The 2000 CDC Growth Charts and the New Body Mass Index-For-Age Charts. CDC Growth Charts: United States; 2002.[cited 2005 Ago 19] Available from: <http://www.cdc.gov>.

I-Ju Chen Æ Shu Yu Æ Tze-Fang Wang, Shun-Ping Cheng Æ Lian-Hua Huang. Knowledge about osteoporosis and its related factors among public health nurses in Taiwan. Osteoporos Int (2005) 16: 2142–2148.

Consensus development conference diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. Am J Med 1993; 94:646-50.

van Coeverden SCCM, Netelenbos JC, Ridder CM, Roos JC, Popp-Snijders Delemarre Van HA. Bone metabolism markers and mass in healthy pubertal boys and girls. Clin Endocrinol 2002; 57: 107-16.

- Cremers S, Garnero P. Biochemical markers of bone turnover in the clinical development of drugs for osteoporosis and metastatic bone disease: potential uses and pitfalls. *Drugs*. 2006;66(16):2031-58.
- Cromer B, Harel Z. Adolescent: at increased risk for osteoporosis? *Clin Pediatr* 2000; 39:565-74.
- Díaz EB, Burrows RA, Muzzo SB, Galgani JF, Rodriguez.RR. Evaluación nutricional de adolescentes mediante índice de masa corporal para etapa puberal. *Rev Chil Pediatr* 1996; 67: 153-8..
- Fares JE, Choucair M, Nabulsi M, Salamoun M, Shahine CH and Fuleihan GE. Effect of gender, puberty, and vitamin D status on biochemical markers of bone remodeling. *Bone* 33 (2003) 242-247.
- Fonseca JS, Martins GA. *Curso de Estatística*.6.ed.São Paulo: Atlas, 1996.
- Gilsanz V, Gibbens DT, Roe TF, Carlson M, Senac MO, Boechat MI, Huang HK, Schulz EE, Libanati CR, Cann CC. Vertebral bone density in children: effect of puberty. *Radiology*. 1988 Mar;166(3):847-50.
- Goldberg TBL, Colli AS, Curi PR. Relação entre área do braço, área do músculo, área de gordura do braço e a menarca em adolescentes do município de Botucatu. *J. pediatr. (Rio J.)*. 1996; 72(2):85-92
- Goldberg TBL. *Modelação e remodelação óssea e suas relações com os eventos pubertários [tese livre docência]*. Botucatu (SP): Faculdade de Medicina; 2006.
- 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. In: Abstract Notification of the 50th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Research 2009 October 9-12; Hamburg. Hamburg; 2009. *Acta Paediatrica* 2009; 98:146-146.
- Greer FR. Bone Health: It's More Than Calcium Intake. *Pediatrics* Vol. 115 No. 3 March 1, 2005, pp. 792 -794.
- Greulich WW, Pyle SI. *Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist*. 2nd ed. Stanford: University Press; 1959.
- Hamill PV, Drizd TA, Johnson CL, Reed RB, Roche AF, Moore WM. Physical growth: National Center for Health Statistics Percentiles. *Am J Clin Nutr* 1979; 32:607-29
- Harel Z, Gold M, Cromer B, Bruner A, Stager M, Bachrach L, et al. Bone mineral density in postmenarchal adolescent girls in the United States: Associated Biopsychosocial Variables and Bone Turnover Markers. *Journal of Adolescents Health* 40 (2007) 44-53.
- Institute of Medicine (US). *Dietary references intakes for calcium and vitamin D*. Washington (DC): National Academy Press 2010.
- Jackman LA, Millane SS, Martin BR, Wood OB, McCabe GP, Peacock M, et al. Calcium retention in relation to calcium intake and postmenarcheal age in adolescent females. *Am J Clin Nutr* 1997; 66:327-33.
- Janz, K. Physical activity and bone development during childhood and adolescence. Implications for prevention of osteoporosis. *Minerva Pediatrica*, v.54, p.558-563, 1990.
- Jelliffe DB. *Evaluación del estado de nutrición de la comunidad*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 1968.
- Jones G, Riley MD, Whiting S. Association between urinary potassium, urinary sodium, current diet, and bone density in prepuberal children. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:839-44.
- Jürimäe J, Mäestu J, Jürimäe T. Bone turnover markers during pubertal development: relationships with growth factors and adipocytokines. *Med Sport Sci*. 2010;55:114-27. Epub 2010 Oct 14. Review.

- Khan K, McKay H, Kannus P, Bailey D, Wark J, Bennell K. Physical activity and bone health. Champaign: Human Kinetics; 2001. p.275.
- Krupa B, Miazgowski T. Bone mineral density and markers of bone turnover in boys with constitutional delay of growth and puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2828-2830.
- Lima F, Falco V, Baima J, Carazzato JG, Pereira RM. Effect of impact load and active load on bone metabolism and body composition of adolescent athletes. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33:1318-23.
- Lorentzon M, Lorentzon R, Backstrom T, Nordstrom P. Estrogen receptor gene polymorphism, but not estradiol levels, is related to bone density in healthy adolescent boys: a cross-sectional and longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Dec;84(12):4597-601.
- Mackelvie KJ, Khan KM, McKay HA. Is there a critical period for bone response to weight-bearing exercise in children and adolescents? A systematic review. *Br J Sports Med* 2002; 36:250-7.
- Matsudo SM & Matsudo VKR. Osteoporose e atividade física. *Revista Brasileira de Ciência e movimento* 1991, 5(3):33-59.
- Marcondes E, Berquó E, Hegg R, Colli AS, Zacchi MAS. Metodologia. In:____-. Crescimento e desenvolvimento pubertário em crianças e adolescentes brasileiros. São Paulo: Ed Brasileira de Ciência, 1982.v.1.
- Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969;44:291-303.
- Marshall WA, Tanner JM. Puberty. In: Falkner F, Tanner JM. *Human growth*. 2 ed.; v.2, New York, 1986.
- Miura M. Biochemical markers of bone turnover. New aspect. An automated assay for measuring bone markers. *Clin Calcium*. 2009;19(8):1160-9.
- Mora S, Pitukcheewanont P, Kaufman FR, Nelson JC and Gilsanz V. Biochemical markers of bone turnover and the volume and the density of bone in children at different stages of sexual development. *Journal of Bone and Mineral Research* vol.14, 10 (1999); 1664-1671.
- Neinstein LS. *Adolescent Health Care: A practical Guide*, 4th Edition. Copyright ©2002 Lippincott Williams & Wilkins.
- Nordström PK, Thorsen K, Nordström G, Bergström E, Lorentzon R. Bone mass, muscle strength, and different body constitutional parameters in adolescent boys with a low or moderate exercise level. *Bone* 1995; 17:351-6.
- Oliveria MR M, Silva CC, Kurokawa CS, Fortes CMT, Capela RC; Teixeira, AS; Dalmas JC and Goldberg TBL*. Bone Mineral Density in Healthy Female Adolescents According to Age, Bone Age and Pubertal Breast Stage. *The Open Orthopaedics Journal*, 2011, 5, 321-327
- Outila TA, Kärkkäinen MUM, Lamberg-Allardt CJE. Vitamin D status affects serum parathyroid hormone concentrations during winter in female adolescents: associations with forearm bone mineral density. *Am J Clin Nutr* 2001; 74:206-10.
- Owen TA, Holthuis J, Markose E, Wijnen AJ, Wolfe SA, et al. Modifications of protein-DNA interactions in the proximal promoter of a cell-growth-regulated histone gene during onset and progression of osteoblast differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 (1990),87,pp.5129-5133.
- Pettersson U, Nordström P, Alfredson H, Henriksson-Larsén K, Lorentzon R. Effect of high impact activity on bone mass and size in adolescent female: a comparative study between two different types of sports. *Calcif Tissue Int* 2000; 67:207-14.
- Philipi ST. Tabela de composição dos alimentos: suporte para decisão profissional. 2^a ed. São Paulo: Coronário; 2002.

Prevalence of overweight among adolescents: United States, 1988-91. MMWR. Morb Wkly Rep 1994; 43(44):181-21.

Prynne CJ, Ginty F, Paul AA, Bolton-Smith C, Stear SJ, Jones SC, Prentice A. Dietary acid-base balance and intake of bone-related nutrients in Cambridge teenagers. Eur J Clin Nutr. 2004. Nov;58(11):1462-71.

Rabinovich CE. Osteoporosis: A Pediatric Perspective. Arthritis & Rheumatism, 50.nº4, April 2004, 1023-1025.

Rauchenzauner M, Schmid A, Heinz-Erian P, Kapelari K, Falkensammer G, Griesmacher A, et al. Sex-and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2007, 92(2):443-449.

Riggs BL, Melton LJ. The worldwide problem of osteoporosis: insight afforded by epidemiology. Bone 1995; 17(5 suppl):S505-11.

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

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

Saraiva GL, & Lazaretti-Castro M. Marcadores Bioquímicos da remodelação óssea na prática clínica. Arq Bras Endocrinol Metab 2002, 46: 72 -78.

Seibel MJ. Nutrition and molecular markers of bone remodelling. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 5:525-531, 2002.

Siervogel RM, Demerath EW, Schubert C, Remsberg KE, Chumlea WC, Sun S, Czerwinski SA, Towne B. Puberty and body composition. Horm Res. 2003;60(Suppl 1):36-45.

Silva CC, Teixeira AS, Goldberg TBL. Densidade e conteúdo mineral ósseo de adolescentes na faixa etária de 10 a 20 anos. Processo CNPq nº 130043/2003. Botucatu: Departamento de Pediatria; 2001.

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

Silva CC, Teixeira AS, Goldberg TBL. Impacto da ingestão de cálcio sobre a mineralização óssea de adolescentes. Rev Nutr 2004; 17:351-9.

Silva CC, Goldberg TBL, Teixeira AS, Dalmas JC. Análise preditiva da densidade mineral óssea em adolescentes brasileiros eutróficos do sexo masculino. Arq Bras Endocrinol Metab 2006; 50(1):105-13.

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

Soyka LA, Fairfield WP, Klibanski. Clinical review 117: Hormonal determinants and disorders of peak bone mass in children. J Clin Endocrinol Metab. 2000 Nov;85(11):3951-63.

Sowers M, Eyre D, Hollis BW, Randolph JF, Shapiro B, Jannausch ML, Crutchfield M. Biochemical markers of bone turnover in lactating and nonlactating postpartum women. J Clin Endocrinol Metab. 1995 Jul;80(7):2210-6.

Specker B. Are Activity and Diet Really Important for Children's Bones? Nutr Today. 2002 Mar-Apr;37(2):44-49

Tuchman S, Thayu M, Shults J, Zemel BS, Burnham JM, Leonard MB. Interpretation of biomarkers of bone metabolism in children: impact of growth velocity and body size in healthy children and chronic disease. Watts NB. Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. *Clinical Chemistry* 1999, 45:8(B).

Weaver CM, Peacock M, Martin BR, Plawewski KL, McCabe GP. Calcium retention estimated from indicators of skeletal status in adolescent girls and young women
Am J Clin Nutr. 1996 Jul;64(1):67-70.

Wilson JD & Foster DW.(eds), 1998. *William's Textbook of Endocrinology*. 9th ed. Philadelphia: WB. Saunders Co., p.1569-98.

World Health Organization: Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation, W.H.O. Technical Report Series,916. Geneva: WHO 2003.

Vieira JGH. Considerações sobre os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo e sua utilidade prática. *Arq Bras Endocrinol Metab* 43;6: 415-422 , 1999.

Vieira LM, Saes SO, Dória AAB, Goldberg TBL. Reflexões sobre a anticoncepção na adolescência no Brasil. *Rev. Bras. Saude Mater. Infant* 2006, 6 (1):135-40.

Vieira LM, Goldberg TBL, Saes SO, Doria AAB. Abortamento na adolescência: um estudo epidemiológico. *Ciênc. saúde coletiva* [online]. 2007, 12 (5):1201-8.

Vieira LM, Goldberg TBL, Saes SO, Doria AAB. Abortamento na adolescência: da vida à experiência do colo vazio. Um estudo qualitativo. *Ciência & Saúde Coletiva* 2008. *In press*.

Yilmaz D, Ersoy B, Bilgin E, Gumuser G, Onur E, Pinar ED. Bone mineral density in girls and boys at different pubertal stages: relation with gonadal steroids, bone formation markers, and growth parameters. *J Bone Miner Metab (200%)* 23:476-482.

Zander K. Hormonal contraception and bone mineral density. *Postgraduate Obstetrics & Gynecology* 2007; 27:1-5.

ANEXOS

ANEXOS

Anexo 01



AUTORIZAÇÃO

Eu *Marino Angst*, Diretor da Associação Brasileira de Educadores Lassalistas, Colégio La Salle, situado na Praça Isabel de Arruda, 72 – Centro na cidade de Botucatu-SP, autorizo a participação de alunos do sexo feminino entre a idades de 10 a 20 anos incompletos, a participarem de uma pesquisa intitulada: *Densidade e conteúdo mineral ósseo de adolescentes do sexo feminino na faixa etária de 10 a 20 anos*. Estou ciente que a pesquisa não administrará qualquer medicamento, não haverá prejuízo nem por parte da escola nem aos adolescentes no âmbito financeiro ou qualquer comprometimento das atividades escolares destes.

O trabalho será realizado por *Marcos Vinícius de Oliveira Neto* e *Cristina Maria Teixeira Fortes Rezende*. A pesquisa será supervisionada e orientada pela Profa. Dra. *Tamara Beres Lederer Goldberg*, docente do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina UNESP – Botucatu e responsável pela disciplina Medicina do Adolescente na graduação e pós-graduação. A pesquisadora se compromete a entregar aos adolescentes os resultados dos exames (densitometria óssea e idade óssea) de forma gratuita e garante que sua metodologia (avaliação da densidade mineral óssea, idade óssea, indicadores da composição corporal, avaliação nutricional do cálcio e estágios de maturação dos adolescentes) será realizada em local apropriado, de forma individual, sigilosa e confidencial. É de meu conhecimento que o objetivo da pesquisa é diminuir os riscos do desenvolvimento de um estado de osteopenia/osteoporose precoce, bem como intervir em caso dos valores da densidade mineral óssea não estarem normais para a idade.


Marino Angst
Diretor
REG. MEC 4030 - RG 10291410

Botucatu, 17 de julho de 2006



Educação Infantil
Fundamental I e II
Ensino Médio
www.stamarcelina-btu.com.br

AUTORIZAÇÃO

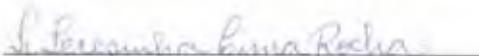
Eu Ir. Teresinha Lima Rocha, Diretora do Colégio Santa Marcelina, situado na Rua Dr. Costa Leite, nº 548 – centro – Botucatu – SP., autorizo a participação de alunos do sexo feminino entre as idades de 10 a 20 anos incompletos, a participarem de uma pesquisa intitulada: Densidade e conteúdo mineral ósseo de adolescentes do sexo feminino na faixa etária de 10 a 20 anos. Estou ciente que a pesquisa não administrará qualquer medicamento, não haverá prejuízo nem por parte da escola nem aos adolescentes no âmbito financeiro ou qualquer comprometimento das atividades escolares destes.

O trabalho será realizado por Marcos Vinícius de Oliveira Neto e Cristina Maria Teixeira Fortes Rezende. A pesquisa será supervisionada e orientada pela Profa. Dra. Tamara Beres Lederer Goldberg, docente do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina UNESP – Botucatu e responsável pela disciplina Medicina do Adolescente na graduação e pós-graduação. A pesquisadora se compromete a entregar aos adolescentes os resultados dos exames (densitometria óssea e idade óssea) de forma gratuita e garante que sua metodologia (avaliação da densidade mineral óssea, idade óssea, indicadores da composição corporal, avaliação nutricional do cálcio e estágios de maturação dos



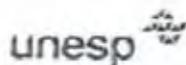
Educação Infantil
Fundamental I e II
Ensino Médio
www.stamarcelina-btu.com.br

adolescentes) será realizada em local apropriado, de forma individual, sigilosa e confidencial. É de meu conhecimento que o objetivo da pesquisa é diminuir os riscos do desenvolvimento de um estado de osteopenia/osteoporose precoce, bem como intervir em caso dos valores da densidade mineral óssea não estarem normais para a idade.



Ir. Teresinha Lima Rocha
Diretora Pedagógica

Botucatu, 08 de maio de 2007.



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu



Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S. P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (Dox14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde em 30 de
abril de 1997

Botucatu, 06 de novembro de 2.006

OF.554/2006-CEP

*Ilustríssima Senhora
Profª. Drª. Tâmara Beres Lederer Goldberg
Departamento de Pediatria da
Faculdade de Medicina de Botucatu*

Prezada Drª Tâmara,

De ordem da Senhora Coordenadora deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa "Densidade e conteúdo mineral ósseo de adolescentes do sexo feminino na faixa etária de 10 a 20 anos e suas relações com marcadores de formação e reabsorção óssea", a ser conduzido por Cristina Maria Teixeira Fortes Rezende, orientada por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 06/11/2006.

Situação do Projeto: APROVADO:

- Ao término deste projeto, apresentar ao CEP Relatório Final de Atividades.*

Atenciosamente,

*Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP.*

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O presente estudo objetiva realizar e avaliar a densidade mineral óssea, idade óssea, indicadores da composição corporal, avaliação nutricional do cálcio e estágios de maturação dos adolescentes. O principal objetivo é minimizar os riscos do desenvolvimento de um estado de osteopenia/osteoporose precoces. A tentativa é de se reduzir as possibilidades dessa alteração óssea, em caso dos valores da densidade mineral óssea não estarem normais para idade. A pesquisa será realizada parcialmente no ambiente escolar e no ambulatório de adolescentes do HC da Faculdade de Medicina Unesp-Botucatu.

Para isto será realizada uma Densitometria óssea, raio-X de Mão e punho e coletado 10 mL de sangue para dosagem de marcadores de remodelação óssea em soro. O material utilizado na coleta de sangue é descartável e estéril sem risco algum ao participante.

Ressaltamos que a participação é totalmente voluntária, com a devida autorização dos pais ou responsáveis e da Direção da escola. A participação é totalmente sem riscos, e não haverá administração de nenhum medicamento. O trabalho será realizado por Marcos Vinicius de Oliveira Neto, Fisioterapeuta e Proprietário da Clínica de Fisioterapia Esportiva de São Manuel (Fisioclin). A pesquisa será supervisionada e orientada pela Profa. Dra. Tamara Beres Lederer Goldberg, docente do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina Unesp-Botucatu e responsável pelo Ambulatório de Adolescente da Faculdade de Medicina de Botucatu- UNESP e pelo Prof. Dr. Altamir Santos Teixeira, docente da Disciplina de Radiodiagnóstico do Departamento de Doenças Tropicais e Radiodiagnóstico desta mesma instituição.

Salientamos também que a direção do Colégio foi prévia e devidamente esclarecida quanto aos objetivos e meios pelos quais o trabalho será realizado e que os adolescentes poderão retirar este consentimento a qualquer momento da pesquisa, sem haver prejuízo. Por fim, informo também que o exame físico será realizado em local apropriado e individualmente. Às adolescentes será entregue o resultado dos exames (densitometria óssea e idade óssea-IO) de forma gratuita, o que significará a possibilidade de conhecimento prévio da mineralização óssea, que servirá como um parâmetro para sua vida.

Ficamos à inteira disposição para esclarecimentos de quaisquer dúvidas.

Contando desde já com vossa colaboração, anexo a esta estará uma autorização para ser preenchida e devidamente assinada.

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. 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.

_____ data: ___/___/___
Assinatura do Responsável

_____ data: ___/___/___
Adolescente

_____ data: ___/___/___
Assinatura do pesquisador do estudo

Pesquisadores participantes:

Marcos Vinicius de Oliveira Neto / e-mail: vina_re@uol.com.br R. Ângelo Lunardi, 41 – São Manuel / Fone: (14)38416825
Maria Regina M. de Oliveira / e-mail: vina_re@uol.com.br R. Ângelo Lunardi, 41 – São Manuel / Fone: (14)38416825
Cristina Maria T. Fortes / e-mail: cfortes@fmb.unesp.br R. da Azaléia, 169 – Botucatu / Fone: (14)38158185
Cilmery S. Kurokawa / e-mail: kurokawa@fmb.unesp.br R Ursula Camargo de Barros, 433 - Botucatu / Fone: (14)38155711
Tamara B. L. Goldeberg / e-mail: tamara@fmb.unesp.br R. Francisco Lyra Brandão, 567 - Botucatu / Fone: (14)3815-1899
Altamir Santos Teixeira / Pça Isabel Arruda, 50 / Fone: 3815-2131

Anexo 05

Caracterização Sociocultural e familiar

Ao Adolescente e sua Família

Nome do adolescente: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Data de nascimento: ____/____/____ idade: ____ anos ____ meses

Local de nascimento : _____ estados: _____

Nome do Pai: _____

Nome da Mãe: _____

Tem irmãos? Sim () Não ()

Quantos? ____ Estudam na mesma escola? Sim () Não()

Colégio que estuda: _____

Como vai p/ escola?

Carro(), ônibus (), caminhando (), condução particular ()

Estuda Inglês ou computação? Sim () Não (): _____

Faz atividade física além da educação física do colégio? Sim () Não ()

Qual(is) atividade(s)? _____ Quantas vezes por semana? _____

Pai trabalha? Sim () Não () – Profissão: _____

Mãe trabalha? Sim () Não () – profissão _____

Irmão trabalha? Sim () Não () – profissão: _____

Quais suas atividades preferida nas horas livres? _____

Você consome algum tipo de bebida alcoólica?

Sim () não () diariamente () final de semana () raramente ()

Você fuma ? sim (), Não () Quantos cigarros? _____

O que mais gosta d comer? _____

O que mais gosta d beber? _____

Você merenda na escola?

Sim () não () diariamente () as vezes () raramente ()

Você costuma comprar na cantina da escola?

Sim () não () diariamente () as vezes () raramente ()

O que você costuma comer no horário do intervalo?

Anexo 06

Caracterização dietéticaFicha de identificação

Nome: _____
 Data de nascimento: _____
 Medicamento: _____
 Endereço: _____
 Telefone: _____

Informações:

- Insira todos os alimentos consumidos e as bebidas durante o dia do registro;
- Atenção especial para os alimentos lácteos (leite, iogurtes, queijos, requeijão, sorvetes, coalhadas, entre outros)
- decrava se os alimentos e/ou bebidas são light, diet, desnatado, semi-desnatado, enriquecidos com fibras, vitaminas e minerais.

Dúvidas entrar em contato com:

Maria Regina M. de Oliveira R. Ângelo Lunardi, 41 – São Manuel Fone: (14)38416825 e-mail: vina_re@uol.com.br	Cristina Maria T. F. Rezende R. da Azálea, 169 - Botucatu Fone: (14)38158185 e-mail: cfortes@fmb.unesp.br
---	--

Registro Alimentar de 3 dias – DIA 1

DIA 1: NOME: _____
 Dia da semana (seg-sex): _____ data: _____

Refeição	Alimentos / quantidade
Desjejum	
Colação	
Almoço	
Lanche	
Jantar	
Ceia	

Registro Alimentar de 3 dias – DIA 2

DIA 2: NOME: _____
 Dia da semana (seg-sex): _____ data: _____

Refeição	Alimentos / quantidade
Desjejum	

Colação	
Almoço	
Lanche	
Jantar	
Ceia	

Registro Alimentar de 3 dias – DIA 3

DIA 3: NOME: _____

Dia da semana (seg-sex): _____ data: _____

Refeição	Alimentos / quantidade
Desjejum	
Colação	
Almoço	
Lanche	
Jantar	

Correlações de Spearman

		DMO_LOMBAR	DMO_FEMUR	DMO_CORPO
FAO	rho	-0,696	-0,519	-0,655
	p	0,000	0,000	0,000
	n	68	68	68
CO	rho	-0,367	-0,334	-0,425
	p	0,002	0,005	0,000
	n	68	68	68
SCTX	rho	-0,627	-0,644	-0,695
	p	0,000	0,000	0,000
	n	67	67	67
IMC	rho	0,497	0,570	0,514
	p	0,000	0,000	0,000
	n	69	69	69
Calcio	rho	-0,224	-0,114	-0,169
	p	0,091	0,394	0,205
	n	58	58	58

Anexo 08

Ajustes de modelos de regressão linear para explicar a DMO no locais observados em função da idade cronológica e idade óssea

<i>Variável resposta</i>	<i>Variável independente</i>	β	<i>Erro padrão</i>	p	$IC(\beta;95\%)$
DMO lombar	Idade cronológica	0,0574	0,001	< 0,001	(0,055 – 0,059)
		$R^2 = 98\%$ $F= 3276$ $p < 0,001$	GLRes= 68	p (Shapiro Wlik) = 0,076	
DMO femur	Idade cronológica	0,0592	0,0011	< 0,001	(0,057 – 0,061)
		$R^2 = 97,5\%$ $F= 2700$ $p < 0,001$	GLRes= 68	p (Shapiro Wlik) = 0,546	
DMO corpo	Idade cronológica	0,0654	0,001	< 0,001	(0,063 – 0,068)
		$R^2 = 98,3\%$ $F= 3903$ $p < ,0001$	GLRes= 68	p (Shapiro Wlik) = 0,303	
DMO lombar	Idade óssea	0,0565	0,0009	< 0,001	(0,055 – 0,058)
		$R^2 = 98,4\%$ $F= 4134$ $p < ,0001$	GLRes= 68	p (Shapiro Wlik) = 0,855	
DMO femur	Idade óssea	0,0583	0,001	< 0,001	(0,056 – 0,060)
		$R^2 = 98,1\%$ $F= 3507$ $p < ,0001$	GLRes= 68	p (Shapiro Wlik) = 0,448	
DMO corpo	Idade óssea	0,0644	0,0009	< 0,001	(0,063 – 0,066)
		$R^2 = 98,7\%$ $F= 5331$ $p < ,0001$	GLRes= 68	p (Shapiro Wlik) = 0,204	