

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

**AVALIAÇÃO LABORATORIAL E POR IMAGEM DA
SAÚDE ÓSSEA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM
DEFICIÊNCIA DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO EM
TRATAMENTO**

ISABELA LEITE PEZZUTI

Belo Horizonte

2015

ISABELA LEITE PEZZUTI

**AVALIAÇÃO LABORATORIAL E POR IMAGEM DA
SAÚDE ÓSSEA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM
DEFICIÊNCIA DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO EM
TRATAMENTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientadora: Prof^a. Ivani Novato Silva.

Belo Horizonte

2015

P522a Pezzuti, Isabela Leite.
Avaliação laboratorial e por imagem da saúde óssea de crianças e adolescentes com deficiência de hormônio do crescimento em tratamento [manuscrito]. / Isabela Leite Pezzuti. -- Belo Horizonte: 2015.
151f.: il.
Orientador: Ivani Novato Silva.
Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Hormônio do Crescimento. 2. Doenças Ósseas. 3. Vitamina D. 4. Densitometria 5. Ultrassonografia. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Silva, Ivani Novato. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título

NLM: WK 550

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Jaime Arturo Ramírez

Vice-Reitora: Prof^a. Sandra Regina Goulart Almeida

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Rodrigo Antônio de Paiva Duarte

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof^a. Adelina Martha dos Reis

Faculdade de Medicina:

Diretor: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Vice-Diretor: Prof. Humberto José Alves

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof^a. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Chefe do Departamento de Pediatria: Prof^a. Cláudia Regina Lindgren Alves

Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde - Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente:

Coordenador: Prof. Eduardo Araújo Oliveira

Subcoordenador: Prof. Jorge Andrade Pinto

Ao Marcelo, amor da minha vida,
pelo incentivo e carinho.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Ivani Novato Silva, pela compreensão e por todo ensinamento e incentivo.

À equipe de Endocrinologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da UFMG, pela amizade.

À Dr^a. Maria Tereza Filgueiras, à Luiza e a toda equipe do CEU, pela colaboração na realização da ultrassonografia óssea quantitativa.

À Dr^a. Adriana Kakehasi, à Socorro e ao Mateus, pela ajuda na realização e interpretação dos exames de densitometria.

Ao Prof. Enrico e à Flávia, pela ajuda nas análises estatísticas.

À equipe do Laboratório de Neurociências da Faculdade de Medicina, em especial, à Prof^a. Débora e à Dani.

À equipe do Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica da Faculdade de Medicina, em especial, à Prof^a. Ana Cristina e à Érica.

À equipe do Laboratório do HC-UFMG, em especial, à equipe da coleta.

Às alunas Isabela e Juliana, pela participação na pesquisa.

Às crianças e seus pais que carinhosamente participaram da pesquisa.

Aos colegas de pós-graduação, em especial à Paula, pelas “terapias no laboratório” e incentivos na hora certa.

À minha família, pelo apoio e compreensão nos momentos de ausência.

Ao Marcelo, pelo amor, paciência, companheirismo e ajuda incondicionais.

NOTA EXPLICATIVA

A presente tese foi organizada sob a forma de artigos, de acordo com a resolução 03/2010 de 05/02/2010 do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Área de concentração Saúde da Criança e do Adolescente, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (disponível em: http://ftp.medicina.ufmg.br/cpg/programas/saude_crianca/Arquivos%202013/resolucao_03_2010_regulamenta_formato_de_teses_e_dissertacoes.pdf). O primeiro artigo consiste em uma revisão da literatura sobre a saúde óssea de crianças e adolescentes com deficiência de hormônio do crescimento (DGH). O objetivo foi sumarizar e discutir os achados relevantes da literatura até o momento. As ações do hormônio do crescimento (GH) no osso e os métodos de avaliação da massa óssea na criança também foram revisados. O segundo artigo teve como objetivo avaliar a saúde óssea de crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH, por meio da densitometria (DXA), da ultrassonografia óssea quantitativa (USQ) de falanges e do estudo do metabolismo ósseo, comparando com indivíduos sadios da mesma faixa etária. Também foi avaliado o desempenho da USQ de falanges em relação à DXA. Finalmente, no terceiro artigo, foram avaliadas as concentrações séricas de osteoprotegerina (OPG), osteopontina (OPN) e fator de crescimento de fibroblastos-23 (FGF-23) nos mesmos pacientes. As referências bibliográficas estão dispostas ao final de cada artigo ou seção. Para as citações do texto foi utilizado o sistema denominado Vancouver, elaborado por um grupo de editores das principais publicações biomédicas internacionais na cidade de Vancouver, no Canadá, em 1979 e atualizado em 2004 (*Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication* - www.ICMJE.org).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% GCT	Porcentagem de gordura corporal total
AD-SoS	<i>Amplitude dependent speed of sound</i> (velocidade do som amplitude dependente)
AMPcN	AMP cíclico nefrogênico
Área CL	Área da coluna lombar
BTT	<i>Bone transmission time</i> (tempo de transmissão óssea)
BUA	<i>Broadband ultrasound attenuation</i> (atenuação da onda sonora)
CL	Coluna lombar
CMO	Conteúdo mineral ósseo
CMO CL	Conteúdo mineral ósseo de coluna lombar
CMO CT	Conteúdo mineral ósseo de corpo total
CMO CTsc	Conteúdo mineral ósseo de corpo total sem a cabeça
COEP	Comitê de ética em pesquisa
CT	Corpo total
CTsc	Corpo total sem a cabeça
Curva ROC	<i>Receiver operating characteristic curve</i>
DGH	Deficiência de hormônio do crescimento
DMO	Densidade mineral óssea
DMOa	Densidade mineral óssea areal
DMOv	Densidade mineral óssea volumétrica
DMOv CL	Densidade mineral óssea volumétrica estimada da coluna lombar
DXA	Absorciometria por duplo feixe de raios-X ou densitometria óssea
EAR	<i>Estimated average requirement</i> (necessidade média estimada)
ELISA	Ensaio imunoenzimático
FGF-23	Fator de crescimento de fibroblastos-23
GH	Hormônio do crescimento
HC-UFGM	Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais
IGF-1	Fator de crescimento insulina-símile tipo 1
IMC	Índice de massa corporal
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
IQR	Intervalo interquartil

ISCD	<i>International Society for Clinical Densitometry</i>
MMCT	Massa magra corporal total
NHANES	<i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPG	Osteoprotegerina
OPN	Osteopontina
PAQ-C	Questionário de atividade física para crianças
PMO	Pico de massa óssea
PTH	Paratormônio
RANK	Receptor ativador nuclear kappa beta
RANKL	Ligante do receptor ativador nuclear kappa beta
RDA	<i>Recommended dietary allowance</i> (ingestão dietética recomendada)
SoS	<i>Speed of sound</i> (velocidade do som)
TCQ	Tomografia computadorizada quantitativa
TCQp	Tomografia computadorizada quantitativa periférica
UBPI	<i>Ultrasound bone profile index</i> (perfil biofísico ósseo)
USQ	Ultrassonografia óssea quantitativa

RESUMO

O hormônio do crescimento (GH) é um dos principais reguladores da homeostase óssea e a deficiência de hormônio do crescimento (DGH) é frequentemente listada como uma causa de osteoporose secundária na criança. Recentemente, entretanto, as consequências da DGH na saúde esquelética da criança têm sido questionadas e permanecem incertas.

O objetivo principal desse estudo foi avaliar a saúde óssea de crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH, por meio da densitometria óssea (DXA), da ultrassonografia óssea quantitativa (USQ) de falanges e da dosagem sérica de substâncias mediadoras do metabolismo ósseo. Procurou-se, ainda, verificar a correlação entre parâmetros clínico-laboratoriais e as medidas densitométricas e ultrassonográficas obtidas. Adicionalmente, investigou-se o desempenho da USQ de falanges em relação à DXA.

Foram selecionadas crianças e adolescentes com DGH confirmada, que estavam em reposição hormonal adequada e em acompanhamento regular na divisão de Endocrinologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG). Esses pacientes foram comparados com indivíduos saudáveis da mesma idade e gênero, recrutados em uma escola pública. De forma sucinta, o protocolo do estudo consistiu em avaliação de hábitos de vida que pudessem interferir na aquisição de uma massa óssea adequada nesses grupos (ingestão de cálcio, exposição ao sol e prática de atividade física), avaliação laboratorial do metabolismo ósteo-mineral, além de estudo da quantidade e da qualidade ósseas por meio da DXA e da USQ de falanges. A análise estatística incluiu testes de comparação (T de Student, Mann Whitney, Kruskal Wallis, Qui-quadrado de Pearson Assintótico ou teste de Levine, quando apropriados), testes de correlação (de Pearson ou de Spearman), o teste de regressão linear simples, o teste de concordância Kappa e a curva ROC (*receiver operating characteristic curve*).

Os resultados desse estudo foram relatados em dois artigos. No primeiro, 36 pacientes com DGH (27 meninos, média de idade de $12,3 \pm 4,3$ anos), em uso de GH por tempo mediano de 3,7 anos, foram avaliados e comparados com 45 indivíduos saudáveis, pareados por idade e gênero. Observou-se que o grupo com DGH consumia

menos cálcio e era mais sedentário em relação ao grupo controle. Foi detectada elevada prevalência de hipovitaminose D em ambos os grupos, apesar de exposição ao sol considerada adequada. Apesar desses achados, as crianças e os adolescentes com DGH mostraram saúde óssea, avaliada pela DXA e pela USQ de falanges, comparável aos controles, quando as variáveis densitométricas e ultrassonográficas foram ajustadas para a altura. Os pacientes não demonstraram incidência aumentada de fraturas. Entretanto, aqueles que consumiam menor quantidade de cálcio tiveram uma pior avaliação quantitativa e qualitativa da massa óssea para a idade. Por fim, houve uma forte correlação positiva entre as variáveis medidas pela DXA e pela USQ de falanges e uma concordância significativa entre os métodos após ajuste das populações de referência. A USQ de falanges demonstrou ótimo desempenho na identificação de indivíduos com baixa massa óssea pela DXA.

No segundo artigo, foram avaliadas as concentrações séricas de osteoprotegerina (OPG), osteopontina (OPN) e fator de crescimento de fibroblastos-23 (FGF-23), na mesma população. Observaram-se concentrações de OPG mais elevadas e de OPN mais baixas no grupo com DGH, em tratamento com GH, em relação ao grupo sadio da mesma faixa etária, sem diferença nas concentrações medianas de FGF-23 entre os dois grupos. Verificou-se, ainda, que as concentrações de OPN foram influenciadas pelo tempo de tratamento com GH, com concentrações mais baixas no início do tratamento.

Em suma, foi demonstrado que crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH, apresentam quantidade e qualidade ósseas para altura, avaliadas pela DXA e pela USQ de falanges, comparáveis aos seus pares saudáveis. Esse achado sugere que esses pacientes têm massa óssea reduzida fundamentalmente pela baixa estatura e não por baixa densidade mineral óssea. Verificou-se, também, que esses pacientes se encontram em estado de recuperação da massa óssea e que OPG e OPN participam desse processo.

A população estudada apresentou vários fatores e comportamentos considerados de risco para a saúde óssea, que se mantidos por longos períodos durante a infância e a adolescência, fases críticas para a saúde esquelética, podem influenciar negativamente o crescimento, o ganho de massa óssea e a obtenção de um pico de massa óssea (PMO) adequado, já incertos nesses pacientes.

A USQ de falanges se mostrou uma técnica confiável em relação à DXA, mas que também demanda cuidados na interpretação dos achados em crianças e adolescentes com baixa estatura. Por ser uma técnica não invasiva, se mostrou promissora num cenário caracterizado por demanda crescente de avaliação dos efeitos de patologias crônicas e seus tratamentos sobre a saúde óssea da criança e do adolescente.

Estudos longitudinais e prospectivos são necessários para confirmar esses achados, aumentando nosso conhecimento sobre os determinantes da aquisição da massa óssea nesses pacientes.

SUMÁRIO

1 JUSTIFICATIVA.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	20
<i>Artigo: “Saúde óssea de crianças e adolescentes com deficiência de hormônio do crescimento: uma revisão da literatura”.</i>	
3 OBJETIVOS.....	59
4 PACIENTES E MÉTODOS.....	60
4.1 Desenho do estudo.....	60
4.2 População.....	60
4.3 Protocolo do estudo.....	62
4.4 Análise estatística.....	69
4.5 Aspectos éticos.....	70
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
<i>Artigo original 1: “Saúde óssea de crianças e adolescentes com deficiência de hormônio do crescimento em tratamento: avaliação laboratorial, densitométrica e ultrassonográfica”.</i>	
<i>Artigo original 2: “Osteoprotegerina, Osteopontina e FGF-23 em crianças e adolescentes com deficiência de hormônio do crescimento em tratamento”.</i>	
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	131
7 ANEXOS.....	134

1 JUSTIFICATIVA

Grande parte da massa óssea de um indivíduo é adquirida durante a infância e a adolescência até que se atinja o pico de massa óssea (PMO) no início da vida adulta¹. Essa fase da vida é, portanto, um período crítico de oportunidade, mas também de vulnerabilidade para a saúde esquelética futura e qualquer alteração nutricional ou doença crônica durante esse período pode predispor o indivíduo acometido ao risco de doença óssea^{2,3}.

O PMO é geralmente definido como a quantidade máxima de massa óssea atingida pelo indivíduo^{1,4}. Posteriormente ao longo da vida, a perda óssea excede a sua formação de maneira que a quantidade de tecido ósseo vai gradualmente diminuindo^{5,6}. O PMO é um dos principais determinantes do risco de osteoporose e está sob forte controle genético⁷. Estudos epidemiológicos sugerem que entre 50 e 85% da variabilidade no PMO é determinada geneticamente⁸, sendo influenciada também por fatores modificáveis como hábitos alimentares, atividade física, estado nutricional e equilíbrio hormonal do indivíduo⁹.

A osteoporose é uma doença do esqueleto caracterizada por baixa massa óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, com consequente aumento da fragilidade óssea e susceptibilidade a fraturas¹⁰. As fraturas associadas e a morbimortalidade subsequente fazem da osteoporose um importante problema de saúde pública¹¹.

Já se acreditou que a osteoporose era uma doença do indivíduo idoso, mas sua importância como doença que também pode afetar a criança, ou que tem sua origem nessa faixa etária, tem sido cada vez mais enfatizada¹². Devido, em parte, à maior sobrevivência de crianças com doenças crônicas e à exposição das mesmas a tratamentos potencialmente tóxicos ao esqueleto, a osteoporose está cada vez mais sendo identificada em indivíduos mais jovens¹³. Em casos graves de baixa massa óssea na infância, a criança já pode apresentar fraturas. Em formas mais leves e crônicas, a criança assintomática pode não atingir o seu potencial de massa óssea geneticamente determinado e terá elevado risco de osteoporose na idade adulta¹⁴.

O hormônio do crescimento (GH) é um dos principais reguladores da homeostase óssea ao longo da vida, atuando no crescimento ósseo longitudinal e nos processos de mineralização, modelamento e remodelamento ósseos^{15, 16}.

Em crianças com deficiência de hormônio do crescimento (DGH), o tratamento com GH visa principalmente à normalização da velocidade do crescimento e à obtenção de uma estatura normal na idade adulta e, na prática clínica, não há preocupação específica se o ganho de massa óssea está adequado. Entretanto, essas crianças podem reunir inúmeros fatores que contribuem para uma elevada morbidade óssea. Além da DGH, outras deficiências hormonais hipofisárias e suas respectivas terapias de reposição, podem contribuir com o dano ósseo¹⁷.

A Sociedade Europeia de Endocrinologia Pediátrica recomenda avaliação da densidade mineral óssea de pacientes com DGH no período de transição (final da adolescência e início da vida adulta) e a cada dois a cinco anos a partir dessa fase¹⁸, mas não existe recomendação para avaliação óssea antes desse período.

Alguns autores demonstraram que a saúde óssea de crianças com DGH é comprometida, com prejuízo da quantidade e qualidade ósseas, mesmo quando é feito ajuste para o tamanho das mesmas^{17, 19, 20}. Entretanto, nem todos os estudos são concordantes e massa óssea adequada para altura também já foi observada^{21, 22}. Em uma revisão recente, Hogler et al. argumentaram que a DGH é erroneamente percebida como uma causa de baixa densidade mineral óssea e osteoporose secundária na criança²³. Na verdade, a saúde óssea da criança com DGH é documentada de maneira insuficiente, às vezes de forma equivocada e os estudos são controversos.

A densitometria ou absorciometria por duplo feixe de raios-X (DXA) tem sido o método mais utilizado para avaliar a saúde óssea no adulto e também na criança e no adolescente. Porém, ela é de difícil interpretação, particularmente em indivíduos com baixa estatura como na DGH²⁴. A ultrassonografia óssea quantitativa (USQ) tem surgido como uma modalidade de avaliação alternativa, com as vantagens de ser feita em aparelho portátil, ser não invasiva, barata, de rápida realização, livre de radiação, além de fornecer uma avaliação qualitativa do osso²⁵. Possui boa correlação com a DXA²⁶ e se mostrou comparável a ela na determinação do risco de fratura óssea^{27, 28}.

Além de avaliar a massa óssea, o estudo do metabolismo cálcio-fósforo e dos marcadores bioquímicos do *turnover* ósseo, que refletem a atividade esquelética, pode ser utilizado para compreender a dinâmica óssea. Sabe-se que a DGH leva a um estado de baixo *turnover* e que o tratamento com GH provoca aumento nos marcadores de formação e reabsorção ósseas¹⁵.

O equilíbrio entre formação e reabsorção ósseas, importante para o acúmulo de massa óssea durante o crescimento, é regulado por múltiplos mediadores. Osteoprotegerina (OPG), osteopontina (OPN) e fator de crescimento de fibroblastos-23 (FGF-23), peptídeos sintetizados predominantemente por células ósseas, são alguns dos envolvidos nesse processo e têm sido estudados em doenças que cursam com alteração da massa óssea²⁹⁻³¹. A OPG é uma citocina que participa do processo de remodelamento, inibindo a osteoclastogênese³². A OPN é uma proteína não colágena da matriz óssea³³ que parece ter ação inibitória sobre a mineralização³⁴ e estimulatória sobre a reabsorção³⁵. Já o FGF-23 é um hormônio regulador da homeostase mineral que diminui as concentrações plasmáticas de fosfato³⁶ e também parece ter ações inibitórias diretas sobre a mineralização óssea³⁷. Estudos avaliando esses mediadores do metabolismo ósseo na DGH são incipientes. Em crianças e adolescentes com DGH essa avaliação poderia proporcionar um estudo mais aprofundado e ao mesmo tempo menos invasivo, complementando o estudo quantitativo da massa óssea, extremamente complexo nesses pacientes²⁴.

Nesse contexto, ressalta-se a importância da presente tese de doutorado, que consistiu em uma avaliação ampla da saúde óssea de crianças e adolescentes com DGH em tratamento com GH, utilizando a DXA, a USQ de falanges e a dosagem sérica de mediadores do metabolismo ósseo. Acreditamos que esse estudo irá colaborar para um melhor entendimento do impacto da DGH na saúde óssea desses pacientes, o que será de grande valia na identificação de medidas preventivas ou terapêuticas oportunas. Além disso, o presente trabalho poderá contribuir na análise das perspectivas de utilização da USQ de falanges, técnica que nos parece promissora para avaliação da saúde óssea da criança e do adolescente.

Referências

1. Baxter-Jones AD, Faulkner RA, Forwood MR, Mirwald RL, Bailey DA. Bone mineral accrual from 8 to 30 years of age: an estimation of peak bone mass. *J Bone Miner Res.* 2011;26(8):1729-39.
2. Soyka LA, Fairfield WP, Klibanski A. Clinical review 117: Hormonal determinants and disorders of peak bone mass in children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(11):3951-63.
3. Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Marcus R, Matkovic V, et al. Peak bone mass. *Osteoporos Int.* 2000;11(12):985-1009.
4. Santos KD, Petroski EL, Ribeiro RR, Guerra-Junior G. Bone quantity and quality in Brazilian female schoolchildren and adolescents. *J Bone Miner Metab.* 2009;27(4):507-12.
5. Poole KE, Compston JE. Osteoporosis and its management. *Bmj.* 2006;333(7581):1251-6.
6. Harvey N, Dennison E, Cooper C. Osteoporosis: a lifecourse approach. *J Bone Miner Res.* 2014;29(9):1917-25.
7. Alam I, Padgett LR, Ichikawa S, Alkhouli M, Koller DL, Lai D, et al. SIBLING family genes and bone mineral density: Association and allele-specific expression in humans. *Bone.* 2014;64c:166-72.
8. Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev.* 2010;31(5):629-62.
9. Stagi S, Cavalli L, Iurato C, Seminara S, Brandi ML, de Martino M. Bone metabolism in children and adolescents: main characteristics of the determinants of peak bone mass. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2013;10(3):172-9.
10. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med.* 1993;94(6):646-50.
11. Holroyd C, Harvey N, Dennison E, Cooper C. Epigenetic influences in the developmental origins of osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2012;23(2):401-10.
12. Ma NS, Gordon CM. Pediatric osteoporosis: where are we now? *J Pediatr.* 2012;161(6):983-90.
13. Bianchi ML. Osteoporosis in children and adolescents. *Bone.* 2007;41(4):486-95.
14. Zhang C, Liu Z, Klein GL. Overview of pediatric bone problems and related osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2012;12(3):174-82.
15. Bex M, Bouillon R. Growth hormone and bone health. *Horm Res.* 2003;60 Suppl 3:80-6.
16. Giustina A, Mazziotti G, Canalis E. Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton. *Endocr Rev.* 2008;29(5):535-59.

17. Mussa A, Repici M, Fiore L, Tuli G, Porta F, Matarazzo P. Bone quantitative ultrasound in congenital and acquired childhood multiple pituitary failure. *Ultrasound Med Biol*. 2010;36(5):726-32.
18. Clayton PE, Cuneo RC, Juul A, Monson JP, Shalet SM, Tauber M. Consensus statement on the management of the GH-treated adolescent in the transition to adult care. *Eur J Endocrinol*. 2005;152(2):165-70.
19. Ekbote VH, Khadilkar V, Chiplonkar SA, Khadilkar A, Mughal Z. Low bone status in Indian growth hormone-deficient children. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2012;25(9-10):969-76.
20. Vignolo M, Di Battista E, Parodi A, Torrisi C, De Terlizzi F, Aicardi G. Bone quality assessed by phalangeal quantitative ultrasonography in children and adolescents with isolated idiopathic growth hormone deficiency. *J Endocrinol Invest*. 2007;30(6):445-50.
21. Gahlot M, Khadgawat R, Ramot R, Eunice M, Ammini AC, Gupta N, et al. The effect of growth hormone deficiency on size-corrected bone mineral measures in pre-pubertal children. *Osteoporos Int*. 2012;23(8):2211-7.
22. Hogler W, Briody J, Moore B, Lu PW, Cowell CT. Effect of growth hormone therapy and puberty on bone and body composition in children with idiopathic short stature and growth hormone deficiency. *Bone*. 2005;37(5):642-50.
23. Hogler W, Shaw N. Childhood growth hormone deficiency, bone density, structures and fractures: scrutinizing the evidence. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;72(3):281-9.
24. Crabtree NJ, Arabi A, Bachrach LK, Fewtrell M, El-Hajj Fuleihan G, Kecskemethy HH, et al. Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Interpretation and Reporting in Children and Adolescents: The Revised 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom*. 2014;17(2):225-42.
25. Baroncelli GI. Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application. *Pediatr Res*. 2008;63(3):220-8.
26. Pluskiewicz W, Adamczyk P, Drozdowska B, Pyrkosz A, Halaba Z. Quantitative ultrasound and peripheral bone densitometry in patients with genetic disorders. *Ultrasound Med Biol*. 2006;32(4):523-8.
27. Hollaender R, Hartl F, Krieg MA, Tyndall A, Geuckel C, Buitrago-Tellez C, et al. Prospective evaluation of risk of vertebral fractures using quantitative ultrasound measurements and bone mineral density in a population-based sample of postmenopausal women: results of the Basel Osteoporosis Study. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(3):391-6.
28. Baroncelli GI, Federico G, Bertelloni S, Sodini F, De Terlizzi F, Cadossi R, et al. Assessment of bone quality by quantitative ultrasound of proximal phalanges of the hand and fracture rate in children and adolescents with bone and mineral disorders. *Pediatr Res*. 2003;54(1):125-36.

29. Ambroszkiewicz J, Sands D, Gajewska J, Chelchowska M, Laskowska-Klita T. Bone turnover markers, osteoprotegerin and RANKL cytokines in children with cystic fibrosis. *Adv Med Sci.* 2013:1-6.
30. Cho EH, Cho KH, Lee HA, Kim SW. High serum osteopontin levels are associated with low bone mineral density in postmenopausal women. *J Korean Med Sci.* 2013;28(10):1496-9.
31. Siomou E, Challa A, Printza N, Giapros V, Petropoulou F, Mitsioni A, et al. Serum osteoprotegerin, RANKL and fibroblast growth factor-23 in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2011;26(7):1105-14.
32. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev.* 2008;29(2):155-92.
33. Merry K, Dodds R, Littlewood A, Gowen M. Expression of osteopontin mRNA by osteoclasts and osteoblasts in modelling adult human bone. *J Cell Sci.* 1993;104 (Pt 4):1013-20.
34. Boskey AL, Christensen B, Taleb H, Sorensen ES. Post-translational modification of osteopontin: effects on in vitro hydroxyapatite formation and growth. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;419(2):333-8.
35. Chellaiah MA, Kizer N, Biswas R, Alvarez U, Strauss-Schoenberger J, Rifas L, et al. Osteopontin deficiency produces osteoclast dysfunction due to reduced CD44 surface expression. *Mol Biol Cell.* 2003;14(1):173-89.
36. Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiol Rev.* 2012;92(1):131-55.
37. Wang H, Yoshiko Y, Yamamoto R, Minamizaki T, Kozai K, Tanne K, et al. Overexpression of fibroblast growth factor 23 suppresses osteoblast differentiation and matrix mineralization in vitro. *J Bone Miner Res.* 2008;23(6):939-48.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Saúde óssea de crianças e adolescentes com deficiência de hormônio do crescimento: uma revisão da literatura

RESUMO

Introdução: A deficiência de hormônio do crescimento (DGH) é considerada causa de osteoporose secundária na criança. Recentemente, entretanto, as consequências dessa doença na saúde esquelética desses pacientes têm sido questionadas e permanecem incertas.

Objetivo: Examinar publicações sobre a saúde óssea de crianças e adolescentes com DGH antes de atingida a altura final, resumindo e discutindo os achados relevantes da literatura até o momento.

Métodos: Foi realizada revisão não sistematizada das literaturas médicas nacional e internacional, nas bibliotecas BIREME e PUBMED. Utilizaram-se os seguintes descritores: *hypopituitarism; growth hormone, deficiency; growth hormone; osteoporosis; bone diseases, metabolic; vitamin D; bone density; densitometry; tomography* e *ultrasonography*.

Resultados: Diversos fatores podem contribuir com o dano ósseo em pacientes com DGH, dentre eles: o próprio déficit de hormônio do crescimento (GH); outras deficiências hormonais hipofisárias e suas respectivas terapias de reposição e déficits nutricionais habituais como hipovitaminose D e baixa ingestão de cálcio. Enquanto alguns estudos demonstraram prejuízo da quantidade e da qualidade ósseas mesmo após ajuste para altura, outros observaram ausência de comprometimento ósseo nesses pacientes. Parece não haver evidências suficientes de risco aumentado de fraturas quando a DGH é isolada.

Conclusões: A saúde óssea de crianças e adolescentes com DGH é documentada de maneira insuficiente, às vezes de forma equivocada e os estudos são controversos. Isso ocorre pela complexidade da avaliação da massa óssea nesses indivíduos. Apesar da evidente importância do GH na regulação do metabolismo ósseo, ainda não está claro se esses pacientes apresentam saúde óssea comprometida e quais são os fatores que poderiam otimizar o ganho de massa óssea e atuar na prevenção de morbidade óssea presente ou futura.

Palavras-chave: hormônio do crescimento, deficiência; osteoporose; doenças ósseas, metabólicas; densidade óssea.

ABSTRACT

Introduction: Growth hormone deficiency (GHD) has been considered a cause of secondary osteoporosis in children. Recently, however, the consequences of this disease on the skeletal health of these patients have been questioned and remain uncertain.

Objective: To search for reports on bone health in children and adolescents with GHD before reaching their final height, summarizing and discussing the relevant findings of the literature published until now.

Methods: A non-systematic review of national and international medical literature was performed in PUBMED and BIREME libraries. The following descriptors were used: hypopituitarism; growth hormone, deficiency; growth hormone; osteoporosis; bone diseases, metabolic; vitamin D; bone density; densitometry; tomography and ultrasonography.

Results: Several factors may contribute to bone damage in patients with GHD, among them: the deficit of growth hormone (GH) itself; other pituitary hormone deficiencies and their replacement therapies and usual nutritional deficits as hypovitaminosis D and low calcium intake. While some studies have demonstrated impairment of bone quantity and quality, even after adjustment for height, others have noted absence of bone damage in these patients. There seems to be insufficient evidence of a higher risk of fractures when GHD is isolated.

Conclusions: Bone health in children and adolescents with GHD is insufficiently and sometimes wrongly documented and the studies are controversial. This occurs because bone mass assessment in these individuals is complex. Despite the obvious importance of GH in the regulation of bone metabolism, it is not yet clear whether these patients have compromised bone health and what are the factors that could optimize bone mass gain and could prevent present and future bone morbidity.

Keywords: growth hormone, deficiency; osteoporosis; bone diseases, metabolic; bone density.

Introdução

O papel do hormônio do crescimento (GH) em promover o crescimento ósseo linear ao longo da infância e da adolescência já é bem estabelecido. Além disso, o GH regula a maturação óssea e é essencial para a manutenção de uma composição corporal adequada. Crianças com deficiência de GH (DGH) não tratadas apresentam baixa estatura grave, atraso da idade óssea e diminuição da massa muscular corporal total^{1,2}.

Sugere-se, também, que a criança com DGH apresenta densidade mineral óssea reduzida, fragilidade óssea e risco aumentado de fraturas, sendo a DGH frequentemente listada como causa de osteoporose secundária na criança^{3,4}. Recentemente, entretanto, a validade dessa suposição tem sido questionada⁵⁻⁸ e um papel direto do GH na densidade mineral óssea da criança permanece controverso. O impacto da DGH na saúde óssea da criança deve ser esclarecido, a natureza das anormalidades ósseas deve ser elucidada e a possível fisiopatologia compreendida para que medidas preventivas ou terapêuticas possam ser avaliadas.

Essa revisão examinou publicações sobre a saúde óssea de crianças e adolescentes com DGH antes de atingida a altura final, incluindo tanto estudos transversais quanto longitudinais. Foi realizada pesquisa bibliográfica na Biblioteca Regional de Medicina - BIREME e na PUBMED, utilizando os seguintes descritores: *hypopituitarism; growth hormone, deficiency; growth hormone; osteoporosis; bone diseases, metabolic; vitamin D; bone density; densitometry; tomography e ultrasonography*. Selecionaram-se artigos publicados a partir de 1990. Foram classificados também estudos que constaram como artigos relacionados àqueles da pesquisa supracitada. O objetivo foi sumarizar e discutir os achados relevantes da literatura até o momento. Inicialmente, para facilitar o entendimento do tema, foi realizada breve revisão sobre as ações do GH no osso e sobre os métodos de avaliação da massa óssea na criança e no adolescente.

I. Ações do GH no osso

O GH é um dos principais reguladores da homeostase óssea ao longo da vida, atuando direta ou indiretamente pelo aumento na síntese do fator de crescimento insulina-símile tipo 1 (IGF-1)^{9, 10}. Durante a infância e adolescência, GH e IGF-1 são

determinantes do crescimento ósseo longitudinal, da maturação esquelética e da aquisição de massa óssea, enquanto na vida adulta, são importantes na manutenção da massa óssea^{11, 12}.

Os reais efeitos do GH e do IGF-1 na estrutura óssea são complexos, específicos para cada região óssea e tipo celular e influenciados por múltiplos hormônios, fatores de crescimento locais, proteínas ligadoras e citocinas¹³.

O eixo GH/IGF-1 exerce seu efeito no osso em três níveis distintos, mas inter-relacionados: placa de crescimento, modelamento e remodelamento ósseos e metabolismo mineral.

Efeitos na placa de crescimento

O crescimento ósseo longitudinal é determinado pela proliferação e diferenciação dos condrócitos na placa de crescimento dos ossos longos, levando à formação de osso endocondral (figura 1). Esse processo é regulado por uma complexa rede de sinais que inclui, além do GH e do IGF-1, o cortisol, o hormônio tireoidiano, o estrogênio, o androgênio, a vitamina D e a leptina. Além disso, é influenciado por fatores genéticos, pelo ambiente celular e pela nutrição do indivíduo. Desse modo, um crescimento ótimo ocorre apenas em indivíduos bem nutridos e saudáveis¹⁴⁻¹⁶. O GH age diretamente na placa de crescimento recrutando os condrócitos em repouso para um estado proliferativo e estimulando a síntese local de IGF-1. Já o IGF-1 sintetizado localmente estimula a proliferação dos condrócitos nas zonas de repouso e proliferativa, além de promover a diferenciação (hipertrofia) dos condrócitos¹⁶.

O excesso de GH na infância resulta em gigantismo. Contrariamente, a deficiência ou insensibilidade ao GH prejudicam acentuadamente o crescimento pós-natal. Deficiência isolada de GH não tratada leva a uma altura final média de -4,7 desvios-padrão (-6,1 a - 3,9)¹⁷.

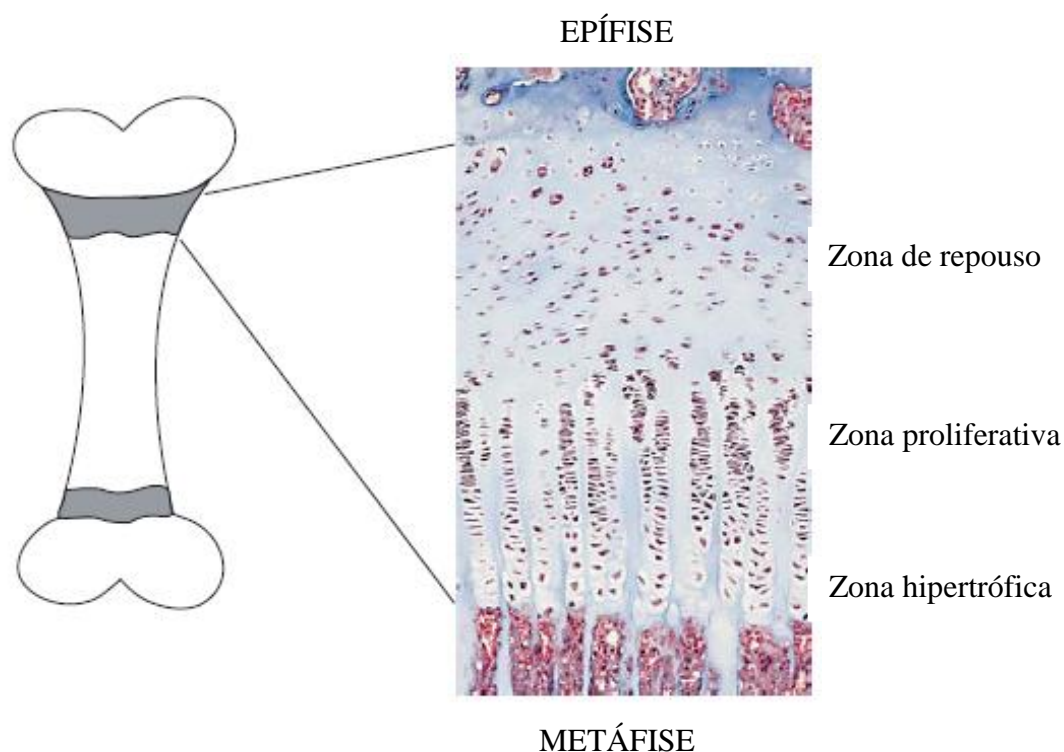


Figura 1: Histologia da placa de crescimento (adaptado de Nilsson et al., 2005)¹⁶. A placa de crescimento consiste de três camadas de condrócitos em vários estádios de diferenciação: a zona de repouso, a zona proliferativa e a zona hipertrófica. A zona hipertrófica é invadida por vasos sanguíneos e células ósseas, sendo em seguida calcificada e o novo osso endocondral é formado.

Efeitos nos processos de modelamento e remodelamento ósseos

O osso é um tecido dinâmico e a integridade do esqueleto é mantida por meio dos processos de modelamento e remodelamento ósseos¹⁸. A forma e a estrutura dos ossos são continuamente modificadas e renovadas por esses dois processos, sendo que ambos envolvem formação e reabsorção ósseas¹⁹.

O modelamento ósseo é um processo que ocorre principalmente durante a fase de crescimento²⁰ e envolve ações não equilibradas de formação e reabsorção ósseas. O processo de modelamento geralmente é regulado por forças mecânicas, serve para manter a massa e a forma do osso e contribui para o pico de massa óssea atingido no início da vida adulta (figura 2)¹⁸.

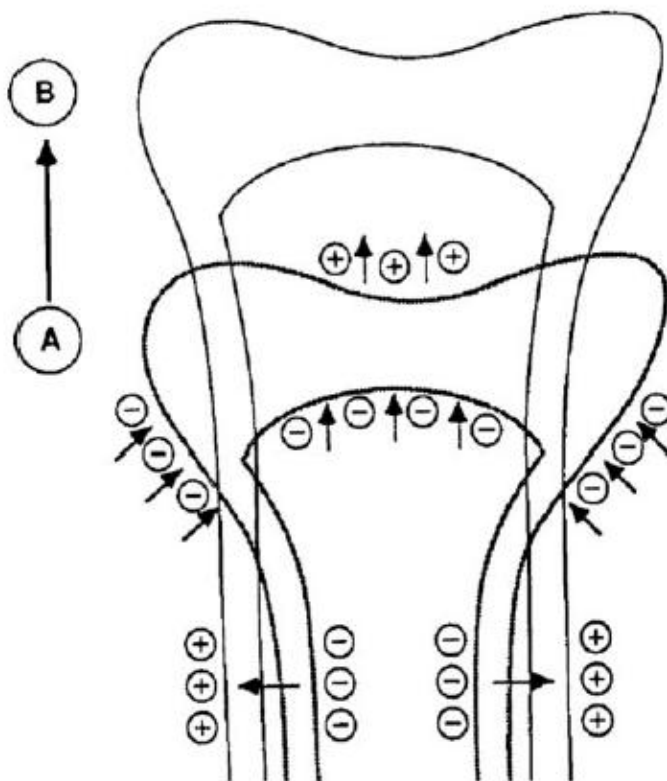


Figura 2: Modelamento ósseo (adaptado de Leonard, 2007)²¹. No processo de modelamento, formação (+) e reabsorção (-) ósseas predominam em sítios diferentes durante o crescimento ósseo de A para B.

Já o remodelamento ósseo é um processo coordenado de reabsorção e formação ósseas que ocorre nas “unidades metabólicas ósseas”. Envolve a remoção de osso mineralizado pelos osteoclastos seguida pela formação de matriz óssea pelos osteoblastos que em seguida se torna mineralizada²². A remodelação óssea ocorre durante toda a vida e é necessária para manter a homeostase mineral e para remover osso potencialmente danificado, mantendo assim, a integridade esquelética¹⁹. No esqueleto jovem saudável, o novo osso formado substitui completamente o osso perdido na fase de reabsorção. Um desequilíbrio na regulação da remodelação óssea, com alteração na formação e/ou na reabsorção, pode resultar em perda óssea²³.

As taxas de modelamento e remodelamento ósseos são bem maiores durante a fase de crescimento. No primeiro ano de vida, quase 100% do esqueleto é renovado. No adulto, o processo de remodelamento acontece numa taxa de 10% ao ano¹⁸. Pode-se concluir, portanto, que problemas envolvendo a formação e/ou a reabsorção óssea em

fase precoce da vida são potencialmente mais prejudiciais do que em fases posteriores, de menor metabolismo ósseo.

Estudos *in vitro* demonstram que o GH afeta os precursores mesenquimais, favorecendo a osteoblastogênese em oposição à adipogênese²⁴. Além disso, estimula a proliferação das células da linhagem osteoblástica²⁵ e a função diferenciada do osteoblasto maduro. O GH estimula a expressão de proteínas ósseas morfogênicas que são importantes para a diferenciação dos osteoblastos e para a formação óssea²⁶. Também estimula a carboxilação da osteocalcina, a proteína não colágena mais abundante da matriz óssea e produto dos osteoblastos diferenciados²⁷. Esse processo permite a deposição da osteocalcina na matriz mineralizada²⁸.

Inversamente, o IGF-1 não tem um efeito direto sobre a diferenciação das células mesenquimais em osteoblastos maduros e exerce efeitos modestos sobre a proliferação das células da linhagem osteoblástica¹⁰. O papel essencial do IGF-1 é estimular a função do osteoblasto maduro e a formação óssea. O IGF-1 estimula a transcrição do colágeno tipo 1 e diminui a síntese de colagenase 3, uma protease que degrada colágeno. Essa dupla ação, isto é, o aumento da síntese de colágeno e a diminuição da sua degradação, é importante para manter níveis apropriados de matriz óssea e de massa óssea²⁹. Indiretamente, o IGF-1 pode favorecer a osteoblastogênese, estabilizando a beta-catenina, uma molécula de sinalização utilizada pela via de sinalização canônica Wnt, essencial para a osteoblastogênese³⁰. O IGF-1 também diminui a apoptose dos osteoblastos. Esse efeito, associado à sua modesta atividade mitogênica, levam a um aumento do número de osteoblastos *in vitro*¹⁰.

O GH estimula a produção de osteoprotegerina (OPG) e o seu acúmulo na matriz óssea³¹. A OPG é uma citocina produzida pelas células da linhagem osteoblástica e fundamental na regulação da atividade osteoclástica. Agindo como um receptor competitivo, impede a ligação do RANKL (ligante do receptor ativador nuclear kappa beta) ao seu receptor RANK (receptor ativador nuclear kappa beta), inibindo a reabsorção óssea³². Já o IGF-1 induz a síntese de RANKL e, como consequência, a osteoclastogênese³³. A indução da síntese de RANKL pelo IGF-1 pode explicar o efeito estimulatório do IGF-1 na reabsorção óssea, enquanto que o estímulo da OPG pelo GH deve contrabalançar esses efeitos¹⁰.

O fato do IGF-1 ter um papel duplo aumentando tanto a formação quanto a reabsorção ósseas pode explicar porque ele tem efeitos modestos na massa óssea *in vivo*¹⁰.

GH e IGF-1 exercem seus efeitos anabólicos no osso trabecular e cortical. Este último ocorre por deposição óssea periosteal, resultando no aumento da largura do osso e resistência esquelética^{34, 35}. O crescimento do osso em largura e o aumento da resistência esquelética também são secundários às forças que agem sobre o osso, exercidas principalmente pelos músculos, estes também regulados pelos efeitos anabólicos do GH e do IGF-1⁵. Observações de modelos animais sugerem que o IGF-1 sistêmico é necessário para manter a estrutura do osso cortical, enquanto que o IGF-1 esquelético (local) parece exercer um papel mais significativo na manutenção do osso trabecular³⁶.

O IGF-I sintetizado pelos osteoblastos está fundamentalmente sob controle do paratormônio (PTH) e, portanto, medeia ações anabólicas seletivas desse hormônio no osso³⁷. Estrogênios e hormônios tireoidianos aumentam e glicocorticoides diminuem a transcrição do IGF-1 nos osteoblastos e efeitos inibitórios específicos dos glicocorticoides no metabolismo ósseo podem ser explicados por níveis reduzidos de IGF-1 no microambiente ósseo³⁸.

Efeitos no metabolismo mineral

O GH também influencia o metabolismo ósseo indiretamente, modulando os dois principais hormônios responsáveis pela homeostase mineral: o PTH e a 1,25(OH)₂ vitamina D (a forma ativa da vitamina D)^{39, 40}. O GH influencia a secreção, o ritmo circadiano e favorece a ação do PTH nos órgãos-alvo³⁷. GH e IGF-1 (de forma semelhante ao PTH) modulam a atividade da 1-alfa hidroxilase e da 24-hidroxilase nos rins, ativando a primeira e inibindo a última, com um aumento na produção da 1,25(OH)₂ vitamina D⁴¹. Além disso, GH e IGF-1 favorecem a retenção de fosfato, aumentando o limiar renal do fosfato, um efeito que é independente do PTH, da vitamina D⁴² e parece não envolver diretamente o FGF-23^{43, 44}, um hormônio regulador da excreção renal de fosfato. Todos esses mecanismos devem contribuir para um

aumento do produto cálcio-fósforo extracelular e possivelmente para o processo de mineralização óssea¹⁰, cuja demanda é elevada em indivíduos em crescimento.

II. Métodos de avaliação da massa óssea na criança e no adolescente

O interesse em estudar a saúde óssea de crianças e adolescentes é crescente nos últimos anos. Identificar indivíduos com baixa massa óssea já no início da vida pode ser uma estratégia importante para que medidas preventivas e terapêuticas sejam tomadas, com o intuito de otimizar o ganho de massa óssea e promover o crescimento saudável do esqueleto⁴⁵. Apesar desse interesse, existem várias peculiaridades na avaliação do indivíduo em crescimento que fazem dela um desafio e que precisam ser reconhecidas e discutidas. A absorciometria por duplo feixe de raios-X ou densitometria óssea (DXA), método mais utilizado para avaliar a densidade mineral óssea (DMO) e a massa óssea ou conteúdo mineral ósseo (CMO), é considerada o “padrão-ouro”, mas outros métodos como a tomografia computadorizada quantitativa periférica (TCQP) e a ultrassonografia óssea quantitativa (USQ) podem fornecer informações adicionais importantes em relação ao tamanho do osso e à geometria e qualidade ósseas⁴⁶. Na verdade, a técnica mais apropriada para avaliação da massa óssea de crianças e adolescentes ainda é um assunto muito discutido e cada método possui vantagens e desvantagens (quadro 1).

Quadro 1: Vantagens e desvantagens dos métodos de avaliação da massa óssea na criança.

MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA MASSA ÓSSEA	VANTAGENS	DESVANTAGENS
DXA	<p>Amplamente disponível</p> <p>É o método mais utilizado, conhecido e estudado (padrão-ouro)</p> <p>Tempo curto de análise</p> <p>Boa precisão</p>	<p>Utiliza radiação, embora em doses mínimas: 6,7–31 μSv (com feixe múltiplo de raios-X)</p> <p>Demanda que a criança permaneça imóvel</p> <p>Mede o osso em 2 dimensões, provendo apenas uma estimativa da densidade mineral óssea</p> <p>Curvas de referência pediátricas limitadas</p>
TCQ	<p>Mede o osso em três dimensões, o que permite avaliação da densidade mineral óssea volumétrica</p> <p>Avalia osso cortical e trabecular separadamente</p>	<p>Utiliza dose elevada de radiação (50–100 μSv), o que inviabiliza o uso rotineiro na criança</p>
TCQp	<p>Mede o osso em três dimensões, o que permite avaliação da densidade mineral óssea volumétrica</p> <p>Avalia osso cortical e trabecular separadamente</p>	<p>Utiliza radiação, embora mínima (<2 μSv)</p> <p>Posicionamento correto é difícil na criança</p> <p>Não disponível clinicamente</p> <p>Sem valores de referência</p>
USQ	<p>Aparelho portátil</p> <p>Não utiliza radiação</p> <p>Medidas são obtidas rápida e facilmente</p> <p>Custo reduzido</p> <p>Elevada reprodutibilidade</p> <p>Prático para ser utilizado na atenção primária e em estudos preventivos</p> <p>Avalia a qualidade óssea, além da quantidade</p>	<p>Menos disponível</p> <p>Menos conhecido e estudado</p> <p>Incerteza sobre o que cada variável realmente reflete</p> <p>Não avalia a massa, densidade e geometria ósseas separadamente</p> <p>Curvas de referência escassas</p> <p>Existem vários tipos de dispositivos, dificultando a comparação entre os estudos</p> <p>Não pode ser realizado se há história de fratura prévia ou deformidade no local de medida</p>

DXA: densitometria óssea; TCQ: tomografia computadorizada quantitativa; TCQp: tomografia computadorizada quantitativa periférica; USQ: ultrassonografia óssea quantitativa.

Densitometria óssea

A DXA é um método que apresenta como vantagens ser amplamente disponível no nosso meio, ser de rápida execução e ter boa precisão. As três principais limitações da DXA em crianças e adolescentes são: a carência de bancos de dados normativos robustos; a falta de desfechos clínicos significativos relacionados às medidas densitométricas e as imprecisões e os artefatos decorrentes das variações de tamanho e composição corporais relacionadas ao crescimento⁴⁷. Além disso, utiliza radiação ionizante (embora em baixos níveis) e demanda que o indivíduo permaneça imóvel durante o procedimento, o que é difícil em crianças com menos de quatro a cinco anos, sem a utilização de sedativos.

A DXA mede a densidade mineral óssea areal (DMOa), uma medida bidimensional e não a densidade volumétrica verdadeira. A DMOa (g/cm^2) é a massa óssea ou CMO por área óssea projetada de uma estrutura tridimensional. A terceira dimensão, a profundidade, não pode ser avaliada diretamente porque fica na mesma direção do feixe de raios-X⁴⁸. Diferentemente do adulto, os ossos de uma criança crescem com o tempo e esse crescimento não é uniforme nas três dimensões. Como o crescimento do esqueleto leva a um aumento muito maior no volume do que na área óssea⁴⁹, crianças pequenas possuem área proporcionalmente maior em relação ao volume ósseo quando comparadas com crianças maiores⁵⁰. Portanto, a DMOa subestima a real densidade óssea em crianças pequenas e superestima nas grandes. Isto é notado a partir do fato de que a DMOa aumenta com a idade ao longo da infância, enquanto a densidade mineral óssea volumétrica (DMOv), medida por tomografia, se mantém relativamente constante até a puberdade^{51, 52}. Por essa razão, a DMOa medida pela DXA é de difícil comparação em crianças, entre as quais há enorme variação de estatura e tamanho ósseo. Em estudo realizado por Wren et al. foram identificadas em média três vezes mais crianças com baixa DMO pela DXA do que pela tomografia. A maioria das crianças identificadas apenas pela DXA tinha uma doença crônica e baixa estatura, indicando que o método subestima a DMO nesses indivíduos⁵³.

A interpretação das medidas densitométricas é muito mais complexa no indivíduo em crescimento do que nos adultos⁵⁴. Por esse motivo, em 2013, a *International Society for Clinical Densitometry* (ISCD) revisou diretriz específica para realização e interpretação da densitometria em crianças e adolescentes⁵⁵⁻⁵⁹.

A ISCD faz as seguintes recomendações:

- 1) Os locais recomendados para a avaliação densitométrica na criança são a coluna lombar (CL) e o corpo total (CT) (preferencialmente excluindo-se a cabeça na criança pequena)⁵⁷.
- 2) As variáveis densitométricas devem ser expressas em desvios-padrão (escores-Z e não escores-T, como no adulto), indicando a diferença em relação ao valor médio da população saudável da mesma idade e gênero⁵⁷.
- 3) Baixo CMO ou baixa DMO são definidos quando o escore-Z é menor ou igual a -2 desvios-padrão (DP) para idade, gênero, etnia e/ou para o tamanho corporal, quando apropriado⁵⁷.
- 4) O diagnóstico de osteoporose na criança não deve ser realizado baseando-se apenas nos resultados da DXA, ou seja, na ausência de evidência clínica de fragilidade óssea. Quando o escore-Z é menor ou igual a -2 DP, mas nenhuma história relevante de fratura está presente, o termo baixo conteúdo mineral ósseo ou baixa densidade mineral óssea para a idade (ou para altura, quando for feito o ajuste), deve ser utilizado. Existe esse cuidado porque na criança, diferentemente do adulto, não se conseguiu correlacionar nenhuma variável densitométrica com o risco de fratura⁵⁸.
- 5) Considera-se história de fratura clinicamente significativa quando pelo menos um dos critérios é preenchido: duas ou mais fraturas de ossos longos até os 10 anos de idade; três ou mais fraturas de ossos longos em qualquer idade, até os 19 anos; uma ou mais fraturas compressivas de vértebra. O último critério faz o diagnóstico de osteoporose independentemente da DXA⁵⁸.
- 6) Em crianças com distúrbios do crescimento ou atraso na maturação esquelética, as medidas densitométricas (CMO e DMOa de coluna lombar e corpo total) devem ser ajustadas para prevenir interpretações equivocadas. Para a coluna, o ajuste deve ser feito estimando-se a DMOv ou utilizando-se o escore-Z para a altura. Para o corpo total, o ajuste deve ser feito utilizando-se o escore-Z para a altura⁵⁷.

Na verdade, vários tipos de ajustes, levando-se em consideração a forma e o tamanho do osso, ou a altura, a idade altura, a idade óssea, o estágio puberal e/ou a massa magra da criança, já foram propostos^{49, 60-65}, mas não há um consenso sobre a

melhor forma de fazê-lo até o momento. Fato é que essas correções para o tamanho da criança, apesar de necessárias, adicionam grande complexidade aos estudos⁶³.

Modelos matemáticos foram desenvolvidos para se estimar a DMOv a partir das medidas densitométricas nas crianças, assumindo-se que a vértebra lombar tenha um formato de um cilindro⁶⁶ ou de um cubo⁴⁹, embora ocorra discussão sobre a validade das suposições feitas sobre a forma do osso. Um dos modelos mais comumente utilizados é a estimativa do volume ósseo a partir da sua área, assumindo-se que a vértebra tenha um formato cubóide. Calcula-se então a DMOv estimada da coluna lombar (DMOv CL), em g/cm^3 , pela fórmula $\text{DMOv CL} = \text{CMO CL} \div \text{Área CL}^{1,5}$ ⁴⁹.

Alternativamente, Molgaard et al. propuseram uma abordagem em três etapas para entender as possíveis causas de CMO baixo para a idade na avaliação do corpo total: ossos de tamanho pequeno (altura para a idade); ossos finos (área óssea em relação à altura) e ossos menos densos (CMO em relação à área óssea)⁶⁰.

Já Crabtree et al. avaliaram a relação entre massa muscular e massa óssea e propuseram um algoritmo em 2 etapas para entender a causa do déficit ósseo, se primário ou secundário à sarcopenia, em crianças com doenças crônicas. O primeiro passo avalia se existe sarcopenia pela relação entre a massa magra corporal total (MMCT) e a altura e o segundo passo avalia se existe osteopenia, pela relação entre o CMO e a MMCT⁶¹. A MMCT medida pela DXA tem se mostrado um dos principais preditores do CMO na população saudável⁶².

O estudo do CMO é considerado um dos métodos preferidos para avaliação do status ósseo devido à sua reprodutibilidade, confiabilidade, precisão e inexistência de erros relacionados à DMOa. O CMO medido pela DXA mostrou forte correlação com o CMO avaliado pela TCQ ($r=0,94$)⁶³. Um estudo propôs que o CMO e a área óssea avaliados em relação à altura foram as medidas que mais se relacionaram aos parâmetros de resistência óssea medidos pela TCQp⁶⁴.

Apesar da DXA avaliar regiões constituídas primariamente por osso cortical (corpo total) e trabecular (coluna lombar), ela não é capaz de obter a DMOa cortical e trabecular separadamente, porque a DMOa é o resultado da relação entre a quantidade de osso abaixo do envelope periosteal e o tamanho do osso. A proporção entre osso trabecular e cortical varia de acordo com a região óssea e, dependendo da condição patológica subjacente, um ou outro tipo de osso será acometido primariamente. Hipogonadismo e uso de esteróides, por exemplo, afetam primariamente a coluna e as extremidades dos ossos longos, constituídos predominantemente por osso trabecular⁶⁷.

Já a baixa ingestão de cálcio afeta primariamente ossos do esqueleto apendicular, constituídos predominantemente por osso cortical⁶⁸.

Tomografia computadorizada quantitativa

A TCQ possui algumas vantagens importantes em relação à DXA e à USQ porque permite o estudo tridimensional do osso. A TCQ consegue medir a DMOv ou verdadeira, em g/cm^3 , uma medida independente do tamanho ósseo. Também acessa a estrutura e a geometria ósseas, ambas determinantes da resistência óssea e analisa o osso cortical e trabecular separadamente^{46, 69}. A coluna e o fêmur proximal são as regiões de interesse usualmente avaliadas⁷⁰. A principal desvantagem desse método é a elevada dose de radiação que o torna inadequado para a utilização na população pediátrica⁷¹.

Já a TCQp permite a análise tridimensional de alguns ossos apendiculares como o rádio, a ulna e o fêmur, utilizando doses menores de radiação, quando comparada com a TCQ. Permite a análise da DMOv cortical e trabecular e também fornece parâmetros geométricos específicos através de imagens obtidas de corte transversal (área total, área cortical, espessura cortical, circunferências do periósteo e endósteo, etc). Esses parâmetros podem ser utilizados para o cálculo de um índice de resistência óssea. Apesar das vantagens, o método impõe dificuldades únicas na criança, devido ao menor tamanho dos ossos; à presença da placa epifisária; à variação no tamanho da metáfise com o crescimento e à dificuldade em se obter medidas no mesmo local para estudos longitudinais em um osso em crescimento⁷². Além disso, o método ainda não foi padronizado e faltam bancos de dados com valores de referência⁷³. Por esses motivos, a TCQp não é utilizada rotineiramente para propósitos clínicos.

Ultrassonografia óssea quantitativa

Interesse recente pela USQ tem sido registrado, já que esse método oferece uma nova maneira de abordar o tecido ósseo. A USQ explora o osso tanto quantitativa quanto qualitativamente, avaliando, além da densidade mineral, a conectividade, a elasticidade e a arquitetura ósseas, provendo assim, uma medida da “qualidade óssea”, utilizada atualmente como indicador global da resistência óssea⁷⁴. Trata-se de uma técnica segura, fácil de ser utilizada e custo efetiva. Apresenta elevada

reprodutibilidade, os dispositivos são portáteis e apenas poucos minutos são necessários para realizar as medidas, além de não utilizar radiação. Essas características são particularmente interessantes para avaliar o status mineral ósseo na faixa etária pediátrica⁷⁵.

Quando uma onda sonora se propaga através de um meio, as alterações progressivas da sua forma, intensidade e velocidade são influenciadas pelas propriedades físicas do meio⁷⁶. Baseando-se nesse princípio, a velocidade de transmissão e a amplitude do sinal do ultrassom refletem as características do tecido ósseo, ao percorrê-lo⁷⁷. Embora já tenha sido demonstrado o potencial de aplicação clínica dessa técnica em um grande número de doenças que afetam a saúde óssea⁷⁸⁻⁸¹, esse método ainda é pouco estudado e utilizado.

Existem vários dispositivos de USQ disponíveis no mercado, que avaliam sítios ósseos periféricos distintos e fornecem parâmetros ultrassonográficos específicos. Aqueles que podem ser empregados na criança são descritos no quadro 2.

Quadro 2: Características dos principais métodos de USQ disponíveis no mercado para avaliação da criança (adaptado de Baroncelli et al., 2008)⁷⁵.

Sítio esquelético avaliado	Região óssea de interesse	Componentes ósseos avaliados	Trajetória da onda sonora no interior do osso	Principais parâmetros obtidos	CV (%) relatados
Calcânhar	Calcâneo médio	Osso trabecular (>90%) com fina camada cortical	Transversal	SoS	0,2-3,9
				BUA	2,7-7,0
Falanges proximais das mãos (II-V dedos)	Extremidade distal da diáfise, abaixo dos cêndilos	Osso cortical (~60%)	Transversal	AD-SoS	0,3-0,9
		Osso trabecular (~40%)		BTT	1,0-3,5
		Pequeno canal medular		UPBI	2,85 ⁸²
Rádio	Terço distal	Osso cortical (>95%)	Axial	SoS	0,4-0,9
Tíbia	Eixo médio	Osso cortical (~100%)	Axial	SoS	0,3-1,0

USQ: ultrassonografia óssea quantitativa; CV: coeficientes de variação; SoS: velocidade do som; BUA: atenuação da onda sonora; AD-SoS: velocidade do som amplitude dependente; BTT: tempo de transmissão óssea; UPBI: perfil biofísico ósseo.

A USQ de calcâneo, técnica mais amplamente validada, avalia, predominantemente, osso trabecular e foi reconhecida pela ISCD, no ano de 2007, como uma técnica que pode ser utilizada para triagem de baixa massa óssea em mulheres pós-menopáusicas e em homens com mais de 65 anos. Segundo essa sociedade, a USQ de calcâneo é capaz de identificar os pacientes sem necessidade de avaliação adicional pela DXA, quando associada à história clínica de fatores de risco para fragilidade óssea⁸³.

Duas variáveis principais são fornecidas por esse dispositivo: a velocidade do som (SoS - *speed of sound*), expressa em metros por segundo (m/s) e a atenuação da onda sonora (BUA - *broadband ultrasound attenuation*), expressa em dB/MHz. A precisão da variável SoS na criança é descrita como sendo melhor do que a da BUA, assim como ocorre no adulto⁸⁴. O posicionamento do pé é a principal causa de imprecisão dessa última medida, o que pode ser um fator limitante em estudos longitudinais⁸⁵.

Uma técnica mais recente, a USQ de falanges, vem sendo estudada na avaliação do status mineral ósseo da criança e tem demonstrado ótima precisão e reprodutibilidade⁷⁵. Utiliza, como pontos de referência para mensuração, as extremidades distais das diáfises das falanges proximais do 2º ao 5º dedos da mão não dominante, onde dois transdutores, um emissor e outro receptor, são posicionados. A região anatômica de interesse contém aproximadamente 60% de osso cortical, além de osso trabecular e um pequeno canal medular⁸⁶, sendo sensível a variações precoces da massa óssea³³. Dois parâmetros são normalmente fornecidos pela USQ de falanges na avaliação da criança e do adolescente: a velocidade do som amplitude dependente (AD-SoS - *amplitude-dependent speed of sound*) e o tempo de transmissão óssea (BTT - *bone transmission time*). As medidas ósseas são fornecidas automaticamente pelo equipamento, a partir da média de 96 aquisições dos quatro dedos e não são observador-dependentes⁸⁷.

A AD-SoS é expressa em m/s e representa a velocidade do som que percorre o osso. O dispositivo calcula esse parâmetro medindo a largura do dedo (incluindo partes moles) e dividindo-a pelo tempo de percurso, definido como o intervalo de tempo entre o pulso emitido e o sinal recebido, considerando o sinal que atinge uma amplitude predeterminada mínima de 2mV pela primeira vez (figura 3). Assim, ao contrário da SoS, a velocidade do som calculada é amplitude dependente^{87, 88}.

Já o BTT é expresso em micro segundos (μs) e representa o tempo de transmissão óssea. É calculado pela diferença entre o tempo gasto para o primeiro pico de sinal recebido atingir o seu nível máximo no tecido ósseo e o tempo obtido quando apenas tecido mole está presente entre os transdutores (figura 3). Esse parâmetro é calculado apenas a partir das falanges II a IV e o tempo de transmissão no tecido mole é medido entre as bases do polegar e do dedo indicador, durante cada sessão. O BTT, portanto, diferentemente da AD-SoS, reflete apenas as propriedades do osso, independentemente dos efeitos confundidores do tecido mole⁸⁷.

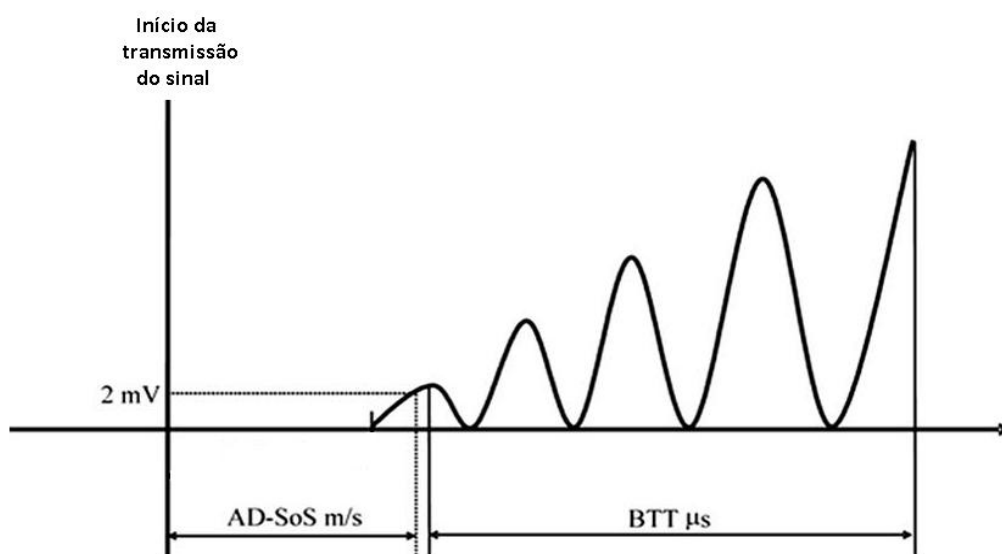


Figura 3: Análise do traçado da onda sonora para o cálculo da AD-SoS e do BTT (adaptada de Baroncelli et al., 2008)⁷⁵.

As variáveis AD-SoS e BTT da USQ de falanges têm se mostrado altamente correlacionadas e parecem fornecer informações similares, embora o BTT seja uma medida mais acurada, porque acessa o status mineral ósseo independentemente de variações na espessura do tecido mole⁸⁷. Estudos clínicos e experimentais mostram que essas variáveis devem refletir a massa e a porosidade corticais⁸⁶, além de parâmetros geométricos como a espessura⁸⁹ e a área corticais^{90, 86}.

Certos modelos de USQ de falanges fornecem, adicionalmente, o perfil biofísico ósseo (UBPI - *ultrasound bone profile index*), uma medida que quantifica as características da transmissão da onda sonora. Os valores fornecidos variam de zero a um, sendo que, quanto maior o índice, menor a chance de fratura. Parece refletir propriedades mais relacionadas com a qualidade óssea, como a elasticidade e a

microarquitetura, já que apresentou padrão diferente da AD-SoS, com valores independentes da idade até os 30 anos⁸².

Alguns autores já relataram que as variáveis ultrassonográficas, assim como ocorre com as medidas da DXA, se correlacionam com a estatura e que a interpretação das mesmas também deve ser feita com cautela, levando-se em consideração essa correlação^{7, 91}. Isso provavelmente ocorre porque as variáveis ultrassonográficas não refletem puramente a densidade (que se mantém relativamente constante até a puberdade)⁹², mas também outros indicadores de resistência óssea^{74, 75, 91}. A geometria óssea, por exemplo, sofre influência da altura, já que o esqueleto vai se adaptando às forças biomecânicas aplicadas sobre ele, com o crescimento⁹¹.

O tamanho do osso pode afetar os parâmetros ultrassonográficos principalmente no calcâneo⁹³. Em relação à USQ de falanges, estimou-se que apenas 6% dos valores da AD-SoS devem estar relacionados com a largura do dedo, confundidor menor dessa medida⁹⁴.

Quanto maior o valor absoluto das variáveis ultrassonográficas SoS, BUA, AD-SoS e BTT para determinada faixa etária, melhor é o status mineral ósseo. Existem algumas curvas de referência pediátricas, obtidas com número razoável de crianças e adolescentes^{87, 95} e as medidas ósseas são expressas em escores-Z para idade, para altura e estágio puberal, de acordo com o dispositivo de USQ utilizado. Assim como ocorre na interpretação da DXA na criança, uma medida abaixo de -2 DP identifica comprometimento da saúde óssea ou “baixo status mineral ósseo” em relação à variável antropométrica considerada⁷⁵.

Tanto a USQ de calcâneo, quanto a de falanges têm se mostrado comparáveis à DXA em identificar mulheres pós-menopáusicas com fraturas vertebrais^{96, 97}. Um estudo com mais de 8000 mulheres mostrou que, para cada decréscimo de um desvio-padrão na AD-SoS nas falanges, o risco de fratura vertebral em 10 anos aumentou 1,7 vezes⁹⁸. Fielding et al.⁸⁰, utilizando a USQ de calcâneo, conseguiram identificar, com a mesma sensibilidade que a DXA, crianças com história de fratura de baixo impacto. Resultados semelhantes foram encontrados por Baroncelli et al.⁹⁹, medindo a AD-SoS nas falanges das mãos e as DMOa e DMOv CL pela DXA. Mussa et al.¹⁰⁰, avaliando 1719 crianças com doenças ósseas, também demonstraram que a USQ de falanges conseguiu discriminar pacientes fraturados de não fraturados, identificando

especificamente aqueles com fraturas relacionadas à fragilidade óssea. Parece que a USQ de calcâneo prediz fragilidade óssea independentemente da DMO¹⁰¹ e a combinação de dados da DXA e da USQ de calcâneo melhora a predição de fratura¹⁰².

Estudos têm mostrado uma correlação variável (desde ausência de correlação até correlação forte), entre as variáveis medidas pela USQ e as variáveis medidas pela DXA e/ou pela TCQp^{78, 91, 103-107}. Uma correlação positiva fraca, mas significativa ($r=0,22$; $p<0,05$), foi encontrada entre a SoS no calcâneo e a DMOv do rádio, medida pela TCQp⁹¹. Correlação moderada foi encontrada entre AD-SoS, medida pela USQ de falanges e a DMO do antebraço, medida pela DXA ($r=0,66$; $p<0,000001$), em crianças com doenças genéticas¹⁰⁴. Recentemente, Gonçalves et al.¹⁰⁷ também demonstraram uma correlação significativa (que variou de 0,59-0,72; $p<0,001$), entre os parâmetros da USQ de falanges e aqueles da DXA de corpo total e coluna lombar, em pacientes com hiperplasia adrenal congênita.

Resultados discordantes entre DXA, TCQp e USQ não significam, necessariamente, erro metodológico⁸³. Na verdade, se os métodos não avaliam as mesmas propriedades do tecido ósseo, não são intercambiáveis e podem não identificar os mesmos pacientes¹⁰⁵. Alguns autores consideram que a USQ pode fornecer informações diferentes e adicionais em relação à DXA^{101, 82}. A BUA medida pela USQ de calcâneo, por exemplo, é influenciada pela conectividade trabecular¹⁰⁸ e por alterações em componentes orgânicos do tecido ósseo¹⁰⁹. Já a SoS parece estar mais relacionada com a densidade do que com a elasticidade óssea¹¹⁰. De qualquer forma, mais estudos são necessários para investigar a correlação e a concordância entre os métodos de avaliação da massa óssea.

Uma limitação da USQ, expressa por alguns autores, é que a mesma não analisa a massa, a densidade e a geometria ósseas separadamente, fornecendo apenas uma estimativa integral do status mineral ósseo⁴⁶. Além disso, as variáveis da USQ ainda são difíceis de interpretar e mais estudos são necessários para avaliar os fatores determinantes de cada variável. As curvas de referências são escassas para a faixa etária pediátrica e para as diversas etnias e existem vários tipos de dispositivos comercialmente disponíveis, o que complica a comparação dos resultados entre os estudos⁸⁹. Segundo a ISCD, essa variabilidade de dispositivos tem dificultado a validação do método na prática clínica e padronização é necessária⁸³.

Concluindo, a interpretação correta dos vários métodos de avaliação da massa óssea requer profundo conhecimento de suas características e limitações. Na criança e no adolescente, os problemas impostos pelo crescimento do esqueleto devem ser sempre considerados e conferem maior complexidade aos estudos. Idealmente, os valores normais das medidas ósseas devem ser definidos levando-se em conta não somente a idade, o gênero e a etnia, mas também a estatura e o estágio puberal. Curvas de referência apropriadas são imprescindíveis para a correta avaliação desses pacientes na prática clínica.

III. Saúde óssea de crianças e adolescentes com DGH

O impacto da DGH na saúde óssea tem sido muito estudado nos últimos 20 anos. Já foi proposto que a DGH pode levar à baixa densidade mineral óssea e ao aumento na incidência de fraturas e essa condição é frequentemente listada como uma causa de osteoporose secundária na criança^{3, 4}. Recentemente, entretanto, a validade dessa proposição tem sido questionada⁵⁻⁸ e um papel direto do GH na densidade mineral óssea da criança permanece controverso. Um dos fatores que colaboram para a persistência dessa dúvida é o fato da DXA, o método mais utilizado para acessar a saúde óssea, ser de difícil interpretação, particularmente em indivíduos com baixa estatura como na DGH.

Massa óssea

Até o momento, vários estudos foram realizados para avaliar a massa óssea das crianças e adolescentes com DGH antes de atingida a altura final. No quadro 3 estão listados todos os estudos encontrados que tiveram, como objetivo primário, comparar a massa óssea de crianças com DGH antes e/ou durante o tratamento com GH em relação a crianças saudáveis. Foram incluídos apenas estudos que utilizaram os métodos atuais de avaliação da massa óssea (DXA, TCQ, TCQp ou USQ). Três estudos foram excluídos porque não realizaram nenhum ajuste das variáveis densitométricas para o tamanho das crianças e outros três devido ao idioma utilizado na publicação (japonês e polonês). Alguns artigos publicados são continuação de estudo transversal inicial; esses artigos foram agrupados para melhor compreensão.

Quadro 3: Estudos que avaliaram a massa óssea de crianças e adolescentes com DGH antes e/ou durante o tratamento com GH.

AUTORES	ANO	POPULAÇÃO	IDADE	DIGH	HP	MÉTODO	VARIÁVEIS ESTUDADAS	AJUSTES REALIZADOS	RESULTADOS PRINCIPAIS
Gahlot et al. ⁶	2012	30 DGH e 75 controles	9,6 ± 1,86	21	9	DXA, Hologic	CMO e área CL CMO e área CT, MMCT	Altura (regressão múltipla), MMCT	CMO CT normal
Ekbote et al. ¹¹¹	2012	50	9,4 ± 3,0	30	20	DXA, Lunar	CMO e área CTsc MMCT	IA, IO, MMCT, segundo Moolgard ⁶⁰	CMO CTsc reduzido
Mussa et al. ¹¹²	2010	43 (32 usando GH)	13,1 ± 4,9	0	43	USQ falanges	AD-SoS BTT	Altura IO	AD-SoS e BTT reduzidos
Vignolo et al. ⁷	2007	68 (44 antes de iniciar o GH)	10,9 ± 2,3	68	0	USQ falanges	AD-SoS BTT	Altura IO	AD-SoS e BTT reduzidos
Schweizer et al. ¹¹³	2007	74 DGH e 35 PIG	7,19 ± 2,91	74	0	TCQp antebraço	CMO, densidade, espessura e área corticais Áreas total, medular e muscular	Comparação com crianças PIG IA	Densidade cortical normal, que diminuiu no 1º ano de uso do GH
Schweizer et al. ¹¹⁴	2003	45	7,52 (3,3-14,4)	42	3				
Hogler et al. ⁸	2005	20 DGH e 57 BEI	9,42 ± 3,73	11	9	DXA, Lunar	CMO CT e CL MMCT DMOv CL	Altura, Estádio puberal, DMOv CL	CMO CT normal e DMOv CL sem melhora após 2 anos de uso do GH
Van der Sluis et al. ¹¹⁵	2002	59 (27 DGH clássica)	8,3 (0,4-16,9)	43	16	DXA, Lunar	DMOa CT e CL CMO CT MMCT DMOv CL	IO DMOv CL	DMOv CL reduzida, com melhora após início do GH
Boot et al. ¹¹⁶	1997	40 (18 DGH clássica)	7,9 (0,4-16,9)	32	8				
Baroncelli et al. ⁵⁰	1998	22 DGH e 40 controles	7,0 ± 0,6	22	0	DXA, Lunar	Área, volume, CMO, DMOa, DMOv CL	Altura, IO, IMC, DMOv CL	DMOv CL reduzida
Saggese et al. ¹¹⁷	1996	32	7,2 -16,3	32	0	DXA	DMOa CL	Idade óssea	DMOa reduzida

GH: hormônio do crescimento; DGH: deficiência de hormônio do crescimento; DIGH: deficiência isolada de GH; HP: hipopituitarismo; DXA: densitometria óssea; CMO: conteúdo mineral ósseo; CL: coluna lombar; CT: corpo total; MMCT: massa magra corporal total; CTsc: corpo total sem a cabeça; IA: idade altura; IO: idade óssea; USQ: ultrassonografia óssea quantitativa; AD-SoS: velocidade do som amplitude dependente; BTT: tempo de transmissão óssea; PIG: pequena para idade gestacional; TCQp: tomografia computadorizada quantitativa periférica; BEI: baixa estatura idiopática; DMOv CL: densidade mineral óssea volumétrica estimada da coluna lombar; DMOa: densidade mineral óssea areal; IMC: índice de massa corporal

A maioria dos estudos que avaliou a massa óssea de crianças com DGH utilizou a DXA, apenas um estudo utilizou a TCQp e dois estudos utilizaram a USQ de falanges. Entre os estudos que utilizaram a DXA, houve grande variação nas variáveis densitométricas avaliadas e nos tipos de ajustes feitos para o tamanho da criança, dificultando muito a comparação entre os achados.

Os dois estudos publicados mais recentemente encontraram resultados conflitantes. Gahlot et al.⁶ detectaram que o CMO CT das crianças com DGH foi comparável ao dos controles após análise de regressão múltipla e correção para a altura e que os ossos das crianças com DGH eram normalmente adaptados para a massa muscular. Em contrapartida, Ekbote et al.¹¹¹ relataram baixo CMO CT (média do escore-Z abaixo de -2 DP) que persistiu mesmo após vários tipos de ajuste.

Os estudos que utilizaram a USQ de falanges para avaliar a saúde óssea das crianças com DGH encontraram baixo BTT e AD-SoS para a idade e também para altura e idade óssea e relataram melhora desses parâmetros com o tratamento com GH^{7, 112}.

Utilizando a TCQp, Schweizer et al.^{113, 114} relataram alterações na estrutura e geometria ósseas do antebraço de crianças com DGH: área total normal, com espessura e área corticais reduzidas, área medular aumentada e densidade cortical normal. No primeiro ano de tratamento com GH ocorreu diminuição da densidade cortical (sugerindo um aumento no processo de remodelamento) e aumento no índice de resistência óssea, secundário à melhora da massa muscular.

Em 2005, Hogler et al.⁸ relataram CMO CT normal para a altura em vinte crianças pré-púberes com DGH. Eles também encontraram que a DMOv CL (g/cm^3), ao diagnóstico, era reduzida comparada à mediana, mas enfatizaram que a maior parte dos valores estava dentro da faixa normal (17% abaixo de -2 DP). Além disso, eles não encontraram mudança significativa na DMOv CL após dois anos de tratamento com o GH.

Em estudos anteriores já havia sido calculada a DMOv CL em crianças com DGH^{50, 115, 116}. A DMOv estimada foi significativamente menor em crianças com DGH quando comparada com os controles em todos esses estudos. Além disso, alguns autores demonstraram um aumento na DMOv CL durante a terapia com o GH^{115, 116}.

Massa óssea e nutrição

A nutrição do indivíduo exerce um papel importante na saúde óssea. Apetite reduzido e hábitos alimentares ruins têm sido relatados em crianças com DGH¹¹⁸. A ingestão dietética insuficiente de energia, cálcio, de outros minerais como o zinco e a deficiência de vitamina D podem contribuir para um ganho de massa óssea inadequado nessas crianças.

Uma alta prevalência de hipovitaminose D (75%) foi relatada recentemente em crianças sicilianas com DGH. As concentrações de 25-OH vitamina D melhoraram após 12 meses de tratamento com GH. Os autores do estudo consideraram que a avaliação das concentrações da vitamina deveria ser rotineira ao diagnóstico e durante o acompanhamento desses pacientes¹¹⁹.

Em estudo piloto experimental, randomizado e controlado, Ekbote et al. sugeriram que a suplementação de cálcio e vitamina D, em associação à terapia com GH, em crianças com DGH e deficiências nutricionais, tem o potencial de aumentar o ganho de massa óssea, sendo que esse efeito foi melhorado com a adição da suplementação de zinco¹²⁰. Um estudo anterior já havia demonstrado uma melhora similar no ganho de massa óssea com a suplementação de cálcio durante a terapia com o GH¹²¹.

Parâmetros bioquímicos

Os marcadores bioquímicos do *turnover* ósseo podem ser utilizados para avaliar as taxas de formação e reabsorção ósseas. Os marcadores de formação refletem a atividade osteoblástica e são subprodutos da síntese do colágeno, proteínas da matriz ou enzimas osteoblásticas (pró-peptídeos do colágeno tipo 1, osteocalcina e fosfatase alcalina óssea). Já os marcadores de reabsorção refletem a atividade osteoclástica e são, em sua maioria, produtos da degradação do colágeno tipo 1 (telopeptídeos do colágeno tipo 1, hidroxiprolina, piridinolina, etc). A interpretação desses marcadores na criança e no adolescente pode ser difícil já que eles refletem de forma inespecífica os processos de modelamento, remodelamento e o crescimento epifisário¹²²⁻¹²⁴.

Um achado quase uniforme entre os estudos é que os níveis desses marcadores estão diminuídos nas crianças e adolescentes com DGH, ocorrendo um aumento tanto dos marcadores de formação quanto de reabsorção a partir dos primeiros meses da terapia com o GH¹. Aumento do *turnover* ósseo após início do GH foi confirmado por

histomorfometria óssea em adultos¹²⁵. O aumento dos parâmetros metabólicos não se correlacionou com as alterações ósseas estruturais detectadas pela TCQp durante a terapia com o GH¹¹⁴. Além disso, a magnitude do aumento dos marcadores no início do tratamento não foi capaz de prever a resposta ao GH em termos de velocidade de crescimento e altura final¹²⁶.

Em relação às concentrações de cálcio, fósforo, PTH e vitamina D nos pacientes com DGH antes e durante o tratamento com o GH, os estudos mostram resultados conflitantes, provavelmente por diferenças metodológicas. O PTH, por exemplo, apresenta um ritmo circadiano e dosagens únicas e em períodos variados do dia já levaram ao achado de PTH diminuído, inalterado ou elevado na DGH¹²⁷.

Tem sido demonstrado, que adultos com DGH apresentam alteração do ritmo circadiano do PTH com aumento sustentado na secreção do hormônio entre 14 e 22 hs e pico noturno menos pronunciado em relação aos controles saudáveis. Apesar de concentrações médias mais elevadas de PTH ao longo do dia, apresentam excreção diminuída de AMP cíclico nefrogênico (AMPcN), um marcador da atividade renal do PTH, o que sugere uma sensibilidade diminuída dos órgãos-alvo ao PTH, nesses pacientes. Isso pode estar implicado no baixo *turnover* ósseo encontrado. As concentrações séricas de 1,25(OH)₂ vitamina D, cálcio e fósforo são mais baixas em relação aos controles e a excreção renal de cálcio é aumentada. As concentrações séricas de fósforo são diminuídas pela ausência do efeito anti-fosfatúrico do GH e pela diminuição da absorção intestinal de fósforo que ocorre na vigência de baixos níveis da forma ativa da vitamina D¹²⁷.

Em contrapartida, a reposição de GH nesses pacientes provoca uma queda significativa nas concentrações do PTH, restaura seu padrão de secreção normal e provoca aumento concomitante do AMPcN, o que sugere uma melhora na sensibilidade ao PTH. Essas modificações são associadas a um aumento das concentrações de 1,25(OH)₂ vitamina D com aumento simultâneo nas concentrações de cálcio, resultado do aumento da absorção intestinal e da reabsorção tubular renal de cálcio. O aumento nas concentrações de fósforo pode refletir o efeito anti-fosfatúrico direto do GH ou a absorção intestinal mediada pelo aumento nas concentrações da vitamina D após início do tratamento. O aumento do *turnover* ósseo também pode contribuir para o aumento das concentrações séricas de cálcio e fósforo⁴⁰.

Também foi sugerido que a DGH leva a uma responsividade diminuída dos receptores sensores de cálcio na glândula paratireoide, às mudanças nas concentrações séricas de cálcio, com diminuição do *set point* do cálcio, o que contribui para as concentrações mais baixas de cálcio nesses pacientes. O tratamento com GH restaura a sensibilidade dos receptores¹²⁸.

Com o intuito de estudar as ações do GH no metabolismo do fósforo, Garder et al.⁴⁴ avaliaram as concentrações de FGF-23 em crianças com DGH antes e durante o tratamento com o GH. De forma contrária ao esperado pelos autores, as concentrações de FGF-23 aumentaram significativamente em relação aos níveis basais após início do GH. Os autores especularam que o eixo GH/IGF-1 exerce uma influência positiva direta na reabsorção de fosfato independentemente do FGF-23 e que o aumento nas concentrações desse hormônio após início do GH poderia ser um mecanismo compensatório pelo aumento das concentrações séricas do fosfato.

Risco de fraturas

Muitos estudos têm relatado incidência aumentada de fraturas em adultos com DGH, mas grande parte dos participantes desses estudos apresentam múltiplas deficiências hormonais pituitárias^{129, 130}. Nesses casos, o risco aumentado de fraturas pode estar relacionado à cirurgia da hipófise, à visão prejudicada com risco aumentado de queda, ao tratamento com doses suprafisiológicas de glicocorticoide ou à reposição insuficiente de hormônios sexuais⁵⁹. Além disso, estudos avaliando a incidência de fraturas em adultos não podem ser extrapolados para as crianças e, na faixa etária pediátrica, os estudos são escassos e com número limitado de pacientes¹³¹.

Em uma revisão recente, Hogler et al.⁵ concluíram que não há evidências suficientes de que deficiência isolada de GH, ou mesmo resistência grave ao GH, cause um risco aumentado de fraturas em crianças ou adultos.

Considerações sobre o uso do GH na fase de transição e no adulto

Entender as consequências da DGH e os efeitos da reposição do GH na saúde óssea de pacientes adultos poderia esclarecer algumas ações do hormônio na criança, já que o adulto não apresenta crescimento ósseo longitudinal e, portanto, as medidas densitométricas são menos sujeitas a erros.

Existem evidências crescentes de que o GH é importante para a aquisição de massa óssea depois de atingida a altura final e para obtenção de um pico de massa óssea adequado¹³². Essa evidência é derivada principalmente de estudos com adolescentes e adultos jovens com DGH que apresentam ganho insuficiente ou até mesmo perda de massa óssea com a suspensão da terapia com GH na fase de transição^{133, 134}. Entretanto, nem todos os estudos têm achados concordantes¹³⁵ e essa questão ainda é debatida^{5, 136}.

Uma metanálise recente sugeriu que há um efeito benéfico da terapia com GH na DMO de adultos com DGH e que esse efeito é influenciado pelo gênero (alguns estudos mostraram efeito benéfico significativo apenas em homens), idade (associação negativa) e duração do tratamento (associação positiva)¹³⁷.

IV. Considerações finais

Compreender as informações contidas nos diversos estudos que avaliaram a massa óssea de crianças e adolescentes com DGH não é uma tarefa fácil, já que os mesmos são cheios de artefatos. A DXA, a técnica mais utilizada para avaliar a saúde óssea, mede a DMOa em g/cm^2 e não a DMOv verdadeira. A DMOa, assim como o CMO, aumentam diretamente com o crescimento, sendo a densidade subestimada em crianças pequenas. Historicamente, o primeiro problema na utilização da DXA na criança foi utilizar o escore-T, comparando-a com um adulto. Quando referências pediátricas foram disponibilizadas, o outro problema foi o de avaliar o escore-Z da DMOa para idade e gênero. Nesse período, muitos artigos publicados mostraram uma baixa densidade mineral óssea em crianças, adolescentes e adultos pequenos com DGH, criando uma enorme confusão⁵. A partir do momento em que as correções para o tamanho das crianças começaram a ser realizadas, iniciou-se um novo desafio já que os tipos de correção utilizados e as variáveis analisadas variaram muito entre os estudos. Outros problemas são o número pequeno de indivíduos incluídos em cada estudo (por ser uma doença rara) e o perfil variável dos pacientes (DGH isolada, pan-hipopituitarismo e até mesmo deficiência parcial de GH). Tudo isso torna muito difícil e complexa a comparação entre os achados e inviabiliza a obtenção de respostas claras sobre a massa óssea das crianças e dos adolescentes com DGH.

Alguns estudos, mas não todos^{50, 111, 115, 116}, mostraram que, após correções adequadas para o tamanho da criança, a massa óssea ou CMO CT é normal^{6, 8} e que a

DMOv CL é apenas discretamente reduzida em relação aos controles, sem aumento durante a terapia com GH⁸.

Entretanto, dizer que a DGH não afeta a DMO das crianças não implica que o hormônio não atue nos processos de aquisição de massa óssea e de mineralização óssea. O GH, como hormônio anabólico, atua no crescimento ósseo longitudinal e nos processos de modelamento, remodelamento e mineralização óssea. Podemos pressupor que todos esses processos estejam igualmente comprometidos na criança com DGH e que, portanto, a densidade não seja afetada. Nesse sentido, a criança com DGH apresentaria comprometimento do crescimento ósseo proporcional nos eixos longitudinal e transversal, a aquisição de massa óssea seria proporcionalmente menor, assim como a deposição de mineral na massa óssea adquirida.

Além disso, a DMO é apenas uma das variáveis que influenciam a resistência óssea, sendo outras características como geometria, arquitetura e organização tridimensional das trabéculas ósseas igualmente importantes¹³⁸. O encontro de DMO normal em crianças com DGH não significa que outros aspectos relacionados à qualidade óssea, por exemplo, estejam normais. A USQ de falanges mostrou qualidade óssea diminuída nesses pacientes^{7, 112}, mas esse aspecto ainda foi muito pouco explorado e deve ser mais estudado para que conclusões definitivas sejam obtidas.

O único estudo que avaliou o osso da criança com DGH de maneira tridimensional, utilizando a TCQp, mostrou uma espessura cortical diminuída mesmo quando foi feito ajuste para o tamanho da criança. Os autores encontraram uma densidade cortical normal^{113, 114}. Esse achado, entretanto, deve ser interpretado com cautela, já que uma densidade *cortical* normal não significa, necessariamente, que o osso trabecular e a densidade óssea sejam normais.

Outra consideração é que não podemos extrapolar os achados da criança para o adulto. Com o fechamento epifisário, cessa o crescimento ósseo longitudinal, mas a aquisição de massa óssea continua até que seja atingido o pico de massa óssea. Se esse processo é GH dependente, então adultos jovens com DGH não tratados nessa fase poderiam apresentar ganho de massa óssea aquém do esperado e risco de osteoporose no futuro. Ou seja, o fato do GH não aumentar a densidade mineral óssea durante a infância (e realmente não é esperado que a densidade volumétrica fosse aumentando com a idade), não quer dizer que o mesmo ocorra no adulto. Entretanto, cuidado deve

ser tomado na interpretação da DMOa de adultos com DGH de início na infância e que apresentam baixa estatura, pelos mesmos motivos já expostos na criança⁵.

Por fim, crianças com DGH podem reunir inúmeros outros fatores que contribuiriam para uma elevada morbidade óssea. Muitas delas possuem outras deficiências hormonais hipofisárias além da DGH e a reposição hormonal inadequada poderia levar ou agravar o dano ósseo. Ademais, com o início do GH, essas crianças entram em crescimento de recuperação, a velocidade de crescimento é acelerada e a elevada aquisição de massa óssea demanda uma elevada taxa de deposição mineral. Com isso, as necessidades de cálcio e vitamina D podem estar aumentadas, fazendo com que uma nutrição adequada seja muito importante. Uma abordagem preventiva nesses pacientes é imprescindível para garantir o crescimento saudável do esqueleto.

Em conclusão, os efeitos do GH na saúde óssea da criança e do adolescente são documentados de maneira insuficiente e são controversos. Apesar das já conhecidas ações do GH no metabolismo ósseo, ainda não está claro se pacientes com DGH em reposição hormonal apresentam uma saúde óssea adequada tanto do ponto de vista quantitativo quanto qualitativo e se outros fatores poderiam ajudar na prevenção de morbidade óssea presente ou futura. Novos estudos são necessários para compreender de forma mais profunda esses aspectos.

Referências

1. Cowell CT, Woodhead HJ, Brody J. Bone markers and bone mineral density during growth hormone treatment in children with growth hormone deficiency. *Horm Res.* 2000;54 Suppl 1:44-51.
2. Ross J, Czernichow P, Biller BM, Colao A, Reiter E, Kiess W. Growth hormone: health considerations beyond height gain. *Pediatrics.* 2010;125(4):e906-18.
3. Bianchi ML. Osteoporosis in children and adolescents. *Bone.* 2007;41(4):486-95.
4. Bachrach LK, Ward LM. Clinical review 1: Bisphosphonate use in childhood osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(2):400-9.
5. Hogler W, Shaw N. Childhood growth hormone deficiency, bone density, structures and fractures: scrutinizing the evidence. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;72(3):281-9.
6. Gahlot M, Khadgawat R, Ramot R, Eunice M, Ammini AC, Gupta N, et al. The effect of growth hormone deficiency on size-corrected bone mineral measures in pre-pubertal children. *Osteoporos Int.* 2012;23(8):2211-7.
7. Vignolo M, Di Battista E, Parodi A, Torrisi C, De Terlizzi F, Aicardi G. Bone quality assessed by phalangeal quantitative ultrasonography in children and adolescents with isolated idiopathic growth hormone deficiency. *J Endocrinol Invest.* 2007;30(6):445-50.
8. Hogler W, Briody J, Moore B, Lu PW, Cowell CT. Effect of growth hormone therapy and puberty on bone and body composition in children with idiopathic short stature and growth hormone deficiency. *Bone.* 2005;37(5):642-50.
9. Bex M, Bouillon R. Growth hormone and bone health. *Horm Res.* 2003;60 Suppl 3:80-6.
10. Giustina A, Mazziotti G, Canalis E. Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton. *Endocr Rev.* 2008;29(5):535-59.
11. Baroncelli GI, Bertelloni S, Sodini F, Saggese G. Acquisition of bone mass in normal individuals and in patients with growth hormone deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2003;16 Suppl 2:327-35.
12. Monson JP, Drake WM, Carroll PV, Weaver JU, Rodriguez-Arno J, Savage MO. Influence of growth hormone on accretion of bone mass. *Horm Res.* 2002;58 Suppl 1:52-6.
13. Ueland T. Bone metabolism in relation to alterations in systemic growth hormone. *Growth Horm IGF Res.* 2004;14(6):404-17.
14. Mackie EJ, Tatarczuch L, Mirams M. The skeleton: a multi-functional complex organ: the growth plate chondrocyte and endochondral ossification. *J Endocrinol.* 2011;211(2):109-21.

15. Spath SS, Andrade AC, Chau M, Nilsson O. Local regulation of growth plate cartilage. *Endocr Dev*. 2011;21:12-22.
16. Nilsson O, Marino R, De Luca F, Phillip M, Baron J. Endocrine regulation of the growth plate. *Horm Res*. 2005;64(4):157-65.
17. Wit JM, Kamp GA, Rikken B. Spontaneous growth and response to growth hormone treatment in children with growth hormone deficiency and idiopathic short stature. *Pediatr Res*. 1996;39(2):295-302.
18. Cheung WW, Zhan JY, Paik KH, Mak RH. The impact of inflammation on bone mass in children. *Pediatr Nephrol*. 2011;26(11):1937-46.
19. Sheng MH, Lau KH, Baylink DJ. Role of Osteocyte-derived Insulin-Like Growth Factor I in Developmental Growth, Modeling, Remodeling, and Regeneration of the Bone. *J Bone Metab*. 2014;21(1):41-54.
20. Seeman E. Bone modeling and remodeling. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2009;19(3):219-33.
21. Leonard MB. Glucocorticoid-induced osteoporosis in children: impact of the underlying disease. *Pediatrics*. 2007;119 Suppl 2:S166-74.
22. Hadjidakis DJ, Androulakis, II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1092:385-96.
23. Rouster-Stevens KA, Klein-Gitelman MS. Bone health in pediatric rheumatic disease. *Curr Opin Pediatr*. 2005;17(6):703-8.
24. Gevers EF, Loveridge N, Robinson IC. Bone marrow adipocytes: a neglected target tissue for growth hormone. *Endocrinology*. 2002;143(10):4065-73.
25. Barnard R, Ng KW, Martin TJ, Waters MJ. Growth hormone (GH) receptors in clonal osteoblast-like cells mediate a mitogenic response to GH. *Endocrinology*. 1991;128(3):1459-64.
26. Canalis E, Economides AN, Gazzero E. Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. *Endocr Rev*. 2003;24(2):218-35.
27. Hubina E, Lakatos P, Kovacs L, Szabolcs I, Racz K, Toth M, et al. Effects of 24 months of growth hormone (GH) treatment on serum carboxylated and undercarboxylated osteocalcin levels in GH-deficient adults. *Calcif Tissue Int*. 2004;74(1):55-9.
28. Patti A, Gennari L, Merlotti D, Dotta F, Nuti R. Endocrine actions of osteocalcin. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:846480.
29. McCarthy TL, Centrella M, Canalis E. Regulatory effects of insulin-like growth factors I and II on bone collagen synthesis in rat calvarial cultures. *Endocrinology*. 1989;124(1):301-9.
30. Playford MP, Bicknell D, Bodmer WF, Macaulay VM. Insulin-like growth factor 1 regulates the location, stability, and transcriptional activity of beta-catenin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(22):12103-8.

31. Mrak E, Villa I, Lanzi R, Losa M, Guidobono F, Rubinacci A. Growth hormone stimulates osteoprotegerin expression and secretion in human osteoblast-like cells. *J Endocrinol.* 2007;192(3):639-45.
32. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev.* 2008;29(2):155-92.
33. Niu T, Rosen CJ. The insulin-like growth factor-I gene and osteoporosis: a critical appraisal. *Gene.* 2005;361:38-56.
34. Seeman E. Periosteal bone formation--a neglected determinant of bone strength. *N Engl J Med.* 2003;349(4):320-3.
35. Rauch F. Bone growth in length and width: the Yin and Yang of bone stability. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2005;5(3):194-201.
36. Sjogren K, Sheng M, Moverare S, Liu JL, Wallenius K, Tornell J, et al. Effects of liver-derived insulin-like growth factor I on bone metabolism in mice. *J Bone Miner Res.* 2002;17(11):1977-87.
37. Lombardi G, Di Somma C, Vuolo L, Guerra E, Scarano E, Colao A. Role of IGF-I on PTH effects on bone. *J Endocrinol Invest.* 2010;33(7 Suppl):22-6.
38. Delany AM, Durant D, Canalis E. Glucocorticoid suppression of IGF I transcription in osteoblasts. *Mol Endocrinol.* 2001;15(10):1781-9.
39. Ameri P, Giusti A, Boschetti M, Murialdo G, Minuto F, Ferone D. Interactions between vitamin D and IGF-I: from physiology to clinical practice. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013;79(4):457-63.
40. Ahmad AM, Thomas J, Clewes A, Hopkins MT, Guzder R, Ibrahim H, et al. Effects of growth hormone replacement on parathyroid hormone sensitivity and bone mineral metabolism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(6):2860-8.
41. Wei S, Tanaka H, Kubo T, Ono T, Kanzaki S, Seino Y. Growth hormone increases serum 1,25-dihydroxyvitamin D levels and decreases 24,25-dihydroxyvitamin D levels in children with growth hormone deficiency. *Eur J Endocrinol.* 1997;136(1):45-51.
42. Caverzasio J, Montessuit C, Bonjour JP. Stimulatory effect of insulin-like growth factor-1 on renal Pi transport and plasma 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Endocrinology.* 1990;127(1):453-9.
43. Ito N, Fukumoto S, Taguchi M, Takeshita A, Takeuchi Y, Yamada S, et al. Fibroblast growth factor (FGF)23 in patients with acromegaly. *Endocr J.* 2007;54(3):481-4.
44. Gardner J, Ashraf A, You Z, McCormick K. Changes in plasma FGF23 in growth hormone deficient children during rhGH therapy. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2011;24(9-10):645-50.

45. Lappe JM, Stegman M, Davies KM, Barber S, Recker RR. A prospective study of quantitative ultrasound in children and adolescents. *J Clin Densitom.* 2000;3(2):167-75.
46. Specker BL, Schoenau E. Quantitative bone analysis in children: current methods and recommendations. *J Pediatr.* 2005;146(6):726-31.
47. Gilsanz V, Wren T. Assessment of bone acquisition in childhood and adolescence. *Pediatrics.* 2007;119 Suppl 2:S145-9.
48. Binkovitz LA, Henwood MJ. Pediatric DXA: technique and interpretation. *Pediatr Radiol.* 2007;37(1):21-31.
49. Carter DR, Bouxsein ML, Marcus R. New approaches for interpreting projected bone densitometry data. *J Bone Miner Res.* 1992;7(2):137-45.
50. Baroncelli GI, Bertelloni S, Ceccarelli C, Saggese G. Measurement of volumetric bone mineral density accurately determines degree of lumbar undermineralization in children with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(9):3150-4.
51. Gilsanz V, Roe TF, Mora S, Costin G, Goodman WG. Changes in vertebral bone density in black girls and white girls during childhood and puberty. *N Engl J Med.* 1991;325(23):1597-600.
52. Schonau E, Wentzlik U, Michalk D, Scheidhauer K, Klein K. Is there an increase of bone density in children? *Lancet.* 1993;342(8872):689-90.
53. Wren TA, Liu X, Pitukcheewanont P, Gilsanz V. Bone densitometry in pediatric populations: discrepancies in the diagnosis of osteoporosis by DXA and CT. *J Pediatr.* 2005;146(6):776-9.
54. Bianchi ML, Baim S, Bishop NJ, Gordon CM, Hans DB, Langman CB, et al. Official positions of the International Society for Clinical Densitometry (ISCD) on DXA evaluation in children and adolescents. *Pediatr Nephrol.* 2010;25(1):37-47.
55. Kalkwarf HJ, Abrams SA, Dimeglio LA, Koo WW, Specker BL, Weiler H. Bone Densitometry in Infants and Young Children: The 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):243-57.
56. Gordon CM, Leonard MB, Zemel BS. 2013 pediatric position development conference: executive summary and reflections. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):219-24.
57. Crabtree NJ, Arabi A, Bachrach LK, Fewtrell M, El-Hajj Fuleihan G, Kecskemethy HH, et al. Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Interpretation and Reporting in Children and Adolescents: The Revised 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):225-42.
58. Bishop N, Arundel P, Clark E, Dimitri P, Farr J, Jones G, et al. Fracture Prediction and the Definition of Osteoporosis in Children and Adolescents: The ISCD 2013 Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):275-80.
59. Bianchi ML, Leonard MB, Bechtold S, Hogler W, Mughal MZ, Schonau E, et al. Bone Health in Children and Adolescents With Chronic Diseases That May Affect

- the Skeleton: The 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):281-94.
60. Molgaard C, Thomsen BL, Prentice A, Cole TJ, Michaelsen KF. Whole body bone mineral content in healthy children and adolescents. *Arch Dis Child.* 1997;76(1):9-15.
61. Crabtree NJ, Kibirige MS, Fordham JN, Banks LM, Muntoni F, Chinn D, et al. The relationship between lean body mass and bone mineral content in paediatric health and disease. *Bone.* 2004;35(4):965-72.
62. Hogler W, Briody J, Woodhead HJ, Chan A, Cowell CT. Importance of lean mass in the interpretation of total body densitometry in children and adolescents. *J Pediatr.* 2003;143(1):81-8.
63. Wren TA, Liu X, Pitukcheewanont P, Gilsanz V. Bone acquisition in healthy children and adolescents: comparisons of dual-energy x-ray absorptiometry and computed tomography measures. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(4):1925-8.
64. Leonard MB, Shults J, Elliott DM, Stallings VA, Zemel BS. Interpretation of whole body dual energy X-ray absorptiometry measures in children: comparison with peripheral quantitative computed tomography. *Bone.* 2004;34(6):1044-52.
65. Warner JT, Cowan FJ, Dunstan FD, Evans WD, Webb DK, Gregory JW. Measured and predicted bone mineral content in healthy boys and girls aged 6-18 years: adjustment for body size and puberty. *Acta Paediatr.* 1998;87(3):244-9.
66. Kroger H, Kotaniemi A, Vainio P, Alhava E. Bone densitometry of the spine and femur in children by dual-energy x-ray absorptiometry. *Bone Miner.* 1992;17(1):75-85.
67. Bianchi ML. Glucorticoids and bone: some general remarks and some special observations in pediatric patients. *Calcif Tissue Int.* 2002;70(5):384-90.
68. Wosje KS, Specker BL. Role of calcium in bone health during childhood. *Nutr Rev.* 2000;58(9):253-68.
69. Adams JE, Engelke K, Zemel BS, Ward KA. Quantitative Computer Tomography in Children and Adolescents: The 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):258-74.
70. Baroncelli GI, Bertelloni S, Sodini F, Saggese G. Osteoporosis in children and adolescents: etiology and management. *Paediatr Drugs.* 2005;7(5):295-323.
71. van Rijn RR, van der Sluis IM, Link TM, Grampp S, Guglielmi G, Imhof H, et al. Bone densitometry in children: a critical appraisal. *Eur Radiol.* 2003;13(4):700-10.
72. Zemel B, Bass S, Binkley T, Ducher G, Macdonald H, McKay H, et al. Peripheral quantitative computed tomography in children and adolescents: the 2007 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2008;11(1):59-74.
73. Fonseca A, Gordon CL, Barr RD. Peripheral quantitative computed tomography (pQCT) to assess bone health in children, adolescents, and young adults: a review of normative data. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2013;35(8):581-9.

74. Raum K, Grimal Q, Varga P, Barkmann R, Gluer CC, Laugier P. Ultrasound to assess bone quality. *Curr Osteoporos Rep.* 2014;12(2):154-62.
75. Baroncelli GI. Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application. *Pediatr Res.* 2008;63(3):220-8.
76. Njeh CF, Boivin CM, Langton CM. The role of ultrasound in the assessment of osteoporosis: a review. *Osteoporos Int.* 1997;7(1):7-22.
77. Genant HK, Engelke K, Fuerst T, Gluer CC, Grampp S, Harris ST, et al. Noninvasive assessment of bone mineral and structure: state of the art. *J Bone Miner Res.* 1996;11(6):707-30.
78. Christoforidis A, Economou M, Papadopoulou E, Kazantzidou E, Farmaki E, Tzimouli V, et al. Comparative study of dual energy X-ray absorptiometry and quantitative ultrasonography with the use of biochemical markers of bone turnover in boys with haemophilia. *Haemophilia.* 2011;17(1):e217-22.
79. Pluskiewicz W, Pyrkosz A, Drozdowska B, Halaba Z. Quantitative ultrasound of the hand phalanges in patients with genetic disorders: a pilot case-control study. *Osteoporos Int.* 2003;14(10):787-92.
80. Fielding KT, Nix DA, Bachrach LK. Comparison of calcaneus ultrasound and dual X-ray absorptiometry in children at risk of osteopenia. *J Clin Densitom.* 2003;6(1):7-15.
81. Rosso R, Vignolo M, Parodi A, Di Biagio A, Sormani MP, Bassetti M, et al. Bone quality in perinatally HIV-infected children: role of age, sex, growth, HIV infection, and antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2005;21(11):927-32.
82. Wuster C, Albanese C, De Aloysio D, Duboeuf F, Gambacciani M, Gonnelli S, et al. Phalangeal osteosonogrammetry study: age-related changes, diagnostic sensitivity, and discrimination power. The Phalangeal Osteosonogrammetry Study Group. *J Bone Miner Res.* 2000;15(8):1603-14.
83. Krieg MA, Barkmann R, Gonnelli S, Stewart A, Bauer DC, Del Rio Barquero L, et al. Quantitative ultrasound in the management of osteoporosis: the 2007 ISCD Official Positions. *J Clin Densitom.* 2008;11(1):163-87.
84. Sawyer A, Moore S, Fielding KT, Nix DA, Kiratli J, Bachrach LK. Calcaneus ultrasound measurements in a convenience sample of healthy youth. *J Clin Densitom.* 2001;4(2):111-20.
85. Lin JC, Amling M, Newitt DC, Selby K, Srivastav SK, Dellling G, et al. Heterogeneity of trabecular bone structure in the calcaneus using magnetic resonance imaging. *Osteoporos Int.* 1998;8(1):16-24.
86. Sakata S, Barkmann R, Lochmuller EM, Heller M, Gluer CC. Assessing bone status beyond BMD: evaluation of bone geometry and porosity by quantitative ultrasound of human finger phalanges. *J Bone Miner Res.* 2004;19(6):924-30.
87. Baroncelli GI, Federico G, Vignolo M, Valerio G, del Puente A, Maghnie M, et al. Cross-sectional reference data for phalangeal quantitative ultrasound from early

childhood to young-adulthood according to gender, age, skeletal growth, and pubertal development. *Bone*. 2006;39(1):159-73.

88. Barkmann R, Rohrschneider W, Vierling M, Troger J, de TF, Cadossi R, et al. German pediatric reference data for quantitative transverse transmission ultrasound of finger phalanges. *Osteoporos Int*. 2002;13(1):55-61.

89. Njeh CF, Richards A, Boivin CM, Hans D, Fuerst T, Genant HV. Factors influencing the speed of sound through the proximal phalanges. *J Clin Densitom*. 1999;2(3):241-9.

90. Barkmann R, Lusse S, Stampa B, Sakata S, Heller M, Gluer CC. Assessment of the geometry of human finger phalanges using quantitative ultrasound in vivo. *Osteoporos Int*. 2000;11(9):745-55.

91. Fricke O, Tutlewski B, Schwahn B, Schoenau E. Speed of sound: relation to geometric characteristics of bone in children, adolescents, and adults. *J Pediatr*. 2005;146(6):764-8.

92. Neu CM, Manz F, Rauch F, Merkel A, Schoenau E. Bone densities and bone size at the distal radius in healthy children and adolescents: a study using peripheral quantitative computed tomography. *Bone*. 2001;28(2):227-32.

93. Cheng S, Njeh CF, Fan B, Cheng X, Hans D, Wang L, et al. Influence of region of interest and bone size on calcaneal BMD: implications for the accuracy of quantitative ultrasound assessments at the calcaneus. *Br J Radiol*. 2002;75(889):59-68.

94. Baroncelli GI, Federico G, Bertelloni S, de Terlizzi F, Cadossi R, Saggese G. Bone quality assessment by quantitative ultrasound of proximal phalanges of the hand in healthy subjects aged 3--21 years. *Pediatr Res*. 2001;49(5):713-8.

95. Santos KD, Petroski EL, Ribeiro RR, Guerra-Junior G. Bone quantity and quality in Brazilian female schoolchildren and adolescents. *J Bone Miner Metab*. 2009;27(4):507-12.

96. Hollaender R, Hartl F, Krieg MA, Tyndall A, Geuckel C, Buitrago-Tellez C, et al. Prospective evaluation of risk of vertebral fractures using quantitative ultrasound measurements and bone mineral density in a population-based sample of postmenopausal women: results of the Basel Osteoporosis Study. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(3):391-6.

97. Alexandersen P, de Terlizzi F, Tanko LB, Bagger YZ, Christiansen C. Comparison of quantitative ultrasound of the phalanges with conventional bone densitometry in healthy postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2005;16(9):1071-8.

98. Kanis JA, Johnell O, Oden A, De Laet C, de Terlizzi F. Ten-year probabilities of clinical vertebral fractures according to phalangeal quantitative ultrasonography. *Osteoporos Int*. 2005;16(9):1065-70.

99. Baroncelli GI, Federico G, Bertelloni S, Sodini F, De Terlizzi F, Cadossi R, et al. Assessment of bone quality by quantitative ultrasound of proximal phalanges of the hand and fracture rate in children and adolescents with bone and mineral disorders. *Pediatr Res*. 2003;54(1):125-36.

100. Mussa A, Porta F, Baldassarre G, Tuli G, de Terlizzi F, Matarazzo P, et al. Phalangeal quantitative ultrasound in 1,719 children and adolescents with bone disorders. *Osteoporos Int.* 2012;23(7):1987-98.
101. Bauer DC, Gluer CC, Cauley JA, Vogt TM, Ensrud KE, Genant HK, et al. Broadband ultrasound attenuation predicts fractures strongly and independently of densitometry in older women. A prospective study. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arch Intern Med.* 1997;157(6):629-34.
102. Hans D, Dargent-Molina P, Schott AM, Sebert JL, Cormier C, Kotzki PO, et al. Ultrasonographic heel measurements to predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study. *Lancet.* 1996;348(9026):511-4.
103. De Schepper J, Roggen I, Van Biervliet S, Robberecht E, Gies I, De Waele K, et al. Comparative bone status assessment by dual energy X-ray absorptiometry, peripheral quantitative computed tomography and quantitative ultrasound in adolescents and young adults with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2012;11(2):119-24.
104. Pluskiewicz W, Adamczyk P, Drozdowska B, Pyrkosz A, Halaba Z. Quantitative ultrasound and peripheral bone densitometry in patients with genetic disorders. *Ultrasound Med Biol.* 2006;32(4):523-8.
105. Williams JE, Wilson CM, Biassoni L, Suri R, Fewtrell MS. Dual energy x-ray absorptiometry and quantitative ultrasound are not interchangeable in diagnosing abnormal bones. *Arch Dis Child.* 2012;97(9):822-4.
106. Christoforidis A, Printza N, Gkogka C, Siomou E, Challa A, Kazantzidou E, et al. Comparative study of quantitative ultrasonography and dual-energy X-ray absorptiometry for evaluating renal osteodystrophy in children with chronic kidney disease. *J Bone Miner Metab.* 2011;29(3):321-7.
107. Goncalves EM, Sewaybricker LE, Baptista F, Silva AM, Carvalho WR, Santos AO, et al. Performance of phalangeal quantitative ultrasound parameters in the evaluation of reduced bone mineral density assessed by DX in patients with 21 hydroxylase deficiency. *Ultrasound Med Biol.* 2014;40(7):1414-9.
108. Karlsson MK, Duan Y, Ahlborg H, Obrant KJ, Johnell O, Seeman E. Age, gender, and fragility fractures are associated with differences in quantitative ultrasound independent of bone mineral density. *Bone.* 2001;28(1):118-22.
109. Cheng S, Tylavsky FA, Orwoll ES, Rho JY, Carbone LD. The role of collagen abnormalities in ultrasound and densitometry assessment: In vivo evidence. *Calcif Tissue Int.* 1999;64(6):470-6.
110. De Terlizzi F, Battista S, Cavani F, Cane V, Cadossi R. Influence of bone tissue density and elasticity on ultrasound propagation: an in vitro study. *J Bone Miner Res.* 2000;15(12):2458-66.
111. Ekbote VH, Khadilkar V, Chiplonkar SA, Khadilkar A, Mughal Z. Low bone status in Indian growth hormone-deficient children. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2012;25(9-10):969-76.

112. Mussa A, Repici M, Fiore L, Tuli G, Porta F, Matarazzo P. Bone quantitative ultrasound in congenital and acquired childhood multiple pituitary failure. *Ultrasound Med Biol*. 2010;36(5):726-32.
113. Schweizer R, Martin DD, Haase M, Roth J, Trebar B, Binder G, et al. Similar effects of long-term exogenous growth hormone (GH) on bone and muscle parameters: a pQCT study of GH-deficient and small-for-gestational-age (SGA) children. *Bone*. 2007;41(5):875-81.
114. Schweizer R, Martin DD, Schwarze CP, Binder G, Georgiadou A, Ihle J, et al. Cortical bone density is normal in prepubertal children with growth hormone (GH) deficiency, but initially decreases during GH replacement due to early bone remodeling. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(11):5266-72.
115. van der Sluis IM, Boot AM, Hop WC, De Rijke YB, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SM. Long-term effects of growth hormone therapy on bone mineral density, body composition, and serum lipid levels in growth hormone deficient children: a 6-year follow-up study. *Horm Res*. 2002;58(5):207-14.
116. Boot AM, Engels MA, Boerma GJ, Krenning EP, De Muinck Keizer-Schrama SM. Changes in bone mineral density, body composition, and lipid metabolism during growth hormone (GH) treatment in children with GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(8):2423-8.
117. Saggese G, Baroncelli GI, Bertelloni S, Barsanti S. The effect of long-term growth hormone (GH) treatment on bone mineral density in children with GH deficiency. Role of GH in the attainment of peak bone mass. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(8):3077-83.
118. Nyberg F. Growth hormone in the brain: characteristics of specific brain targets for the hormone and their functional significance. *Front Neuroendocrinol*. 2000;21(4):330-48.
119. Ciresi A, Ciccio F, Giordano C. High prevalence of hypovitaminosis D in Sicilian children affected by growth hormone deficiency and its improvement after 12 months of replacement treatment. *J Endocrinol Invest*. 2014;37(7):631-8.
120. Ekbote V, Khadilkar A, Chiplonkar S, Mughal Z, Khadilkar V. Enhanced effect of zinc and calcium supplementation on bone status in growth hormone-deficient children treated with growth hormone: a pilot randomized controlled trial. *Endocrine*. 2013;43(3):686-95.
121. Zamboni G, Antoniazzi F, Lauriola S, Bertoldo F, Tato L. Calcium supplementation increases bone mass in GH-deficient prepubertal children during GH replacement. *Horm Res*. 2006;65(5):223-30.
122. Jurimae J. Interpretation and application of bone turnover markers in children and adolescents. *Curr Opin Pediatr*. 2010;22(4):494-500.
123. 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. *J Pediatr*. 2008;153(4):484-90.

124. Rauchenzauner M, Schmid A, Heinz-Erian P, Kapelari K, Falkensammer G, Griesmacher A, et al. Sex- and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(2):443-9.
125. Bravenboer N, Holzmann PJ, ter Maaten JC, Stuurman LM, Roos JC, Lips P. Effect of long-term growth hormone treatment on bone mass and bone metabolism in growth hormone-deficient men. *J Bone Miner Res.* 2005;20(10):1778-84.
126. Baroncelli GI, Bertelloni S, Ceccarelli C, Cupelli D, Saggese G. Dynamics of bone turnover in children with GH deficiency treated with GH until final height. *Eur J Endocrinol.* 2000;142(6):549-56.
127. Ahmad AM, Hopkins MT, Fraser WD, Ooi CG, Durham BH, Vora JP. Parathyroid hormone secretory pattern, circulating activity, and effect on bone turnover in adult growth hormone deficiency. *Bone.* 2003;32(2):170-9.
128. Ahmad AM, Hopkins MT, Thomas J, Durham BH, Fraser WD, Vora JP. Parathyroid responsiveness to hypocalcemic and hypercalcemic stimuli in adult growth hormone deficiency after growth hormone replacement. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;286(6):E986-93.
129. Holmer H, Svensson J, Rylander L, Johannsson G, Rosen T, Bengtsson BA, et al. Fracture incidence in GH-deficient patients on complete hormone replacement including GH. *J Bone Miner Res.* 2007;22(12):1842-50.
130. Vestergaard P, Jorgensen JO, Hagen C, Hoeck HC, Laurberg P, Rejnmark L, et al. Fracture risk is increased in patients with GH deficiency or untreated prolactinomas--a case-control study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002;56(2):159-67.
131. Baroncelli GI, Bertelloni S, Sodini F, Saggese G. Lumbar bone mineral density at final height and prevalence of fractures in treated children with GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(8):3624-31.
132. Tritos NA, Hamrahian AH, King D, Greenspan SL, Cook DM, Jonsson PJ, et al. A longer interval without GH replacement and female gender are associated with lower bone mineral density in adults with childhood-onset GH deficiency: a KIMS database analysis. *Eur J Endocrinol.* 2012;167(3):343-51.
133. Conway GS, Szarras-Czapnik M, Racz K, Keller A, Chanson P, Tauber M, et al. Treatment for 24 months with recombinant human GH has a beneficial effect on bone mineral density in young adults with childhood-onset GH deficiency. *Eur J Endocrinol.* 2009;160(6):899-907.
134. Drake WM, Carroll PV, Maher KT, Metcalfe KA, Camacho-Hubner C, Shaw NJ, et al. The effect of cessation of growth hormone (GH) therapy on bone mineral accretion in GH-deficient adolescents at the completion of linear growth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(4):1658-63.
135. Mauras N, Pescovitz OH, Allada V, Messig M, Wajnrajch MP, Lippe B. Limited efficacy of growth hormone (GH) during transition of GH-deficient patients from adolescence to adulthood: a phase III multicenter, double-blind, randomized two-year trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(7):3946-55.

136. Murras N. GH use in the transition of adolescence to adulthood. *Endocr Dev.* 2010;18:109-25.
137. Barake M, Klibanski A, Tritos NA. Effects of recombinant human growth hormone therapy on bone mineral density in adults with growth hormone deficiency: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(3):852-60.
138. Schoenau E, Neu CM, Rauch F, Manz F. The development of bone strength at the proximal radius during childhood and adolescence. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(2):613-8.

3 OBJETIVOS

O objetivo principal desse estudo foi avaliar a saúde óssea de crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH, por meio da densitometria óssea (DXA), da ultrassonografia óssea quantitativa (USQ) de falanges e de parâmetros bioquímicos.

Os objetivos secundários foram:

- Verificar se existe correlação entre as características clínico-laboratoriais dos pacientes e as variáveis densitométricas e ultrassonográficas obtidas;
- Avaliar o desempenho da USQ de falanges em relação à DXA.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de estudo transversal, utilizando uma amostra de conveniência que incluiu 36 pacientes com diagnóstico confirmado de deficiência de hormônio do crescimento (DGH), em tratamento e 45 indivíduos saudáveis, pareados por idade e gênero, como grupo controle.

4.2 População

Pacientes

Foram incluídos todos os pacientes com idades entre quatro e 20 anos incompletos, com diagnóstico confirmado de DGH clássica, em tratamento com hormônio do crescimento (GH), que estavam em acompanhamento regular, a cada três meses, na divisão de Endocrinologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG), durante o período da coleta de material para o estudo (abril a setembro de 2013) e que não preenchiam nenhum critério de exclusão.

O diagnóstico de DGH foi realizado de acordo com critérios rígidos estabelecidos pelas literaturas nacional e internacional^{1, 2}: baixa estatura (score-Z de altura < -2 desvios-padrão para idade e gênero), baixa velocidade do crescimento (percentil da velocidade de crescimento < 25 para idade e gênero), baixo IGF-1 (score-Z do IGF-1 < -2 desvios-padrão para idade e gênero) e falha em mostrar uma concentração sérica de GH > 5 µg/L (medido por ensaio de quimioluminescência) após dois testes provocativos com estímulo pela clonidina (0,15 mg/m²) e pela insulina (0,05 U/Kg). Ressonância magnética de crânio com estudo da sela túrcica foi realizada em todos os pacientes para ajudar na confirmação do diagnóstico e avaliar a causa da doença.

Todos os pacientes estavam em tratamento regular com GH na dose média de 28 ± 3,3 µg/Kg/dia (0,62 ± 0,07 U/Kg/sem), em seis ou sete aplicações semanais, via subcutânea. A dose do GH era ajustada para manter as concentrações de IGF-1 dentro dos valores de referência para a faixa etária e estava de acordo com a dose recomendada

para o tratamento da DGH durante a fase de crescimento ($25-50 \mu\text{g/Kg/dia}$ ou $0,52-1,05 \text{ U/Kg/sem}$)².

Os pacientes que apresentavam outras deficiências hormonais hipofisárias, além da DGH, estavam recebendo terapia de reposição adequada há pelo menos seis meses. Os pacientes com deficiência de TSH, ACTH e ADH faziam uso de levotiroxina via oral (posologia para manter o T4 livre sérico dentro dos valores de referência), acetato de hidrocortisona via oral ($10\text{mg/m}^2/\text{dia}$) e desmopressina via intranasal (posologia para manter osmolaridade sérica adequada), respectivamente. Apenas pacientes do sexo masculino tinham deficiência de LH e FSH confirmada à época do estudo. Neste caso, todos estavam em uso de testosterona via intramuscular, iniciada a partir de 14 anos de idade, em doses crescentes para mimetizar o desenvolvimento puberal normal.

Os critérios de exclusão utilizados no estudo foram: não estar em reposição hormonal adequada; apresentar doenças ósseas congênitas ou adquiridas; história de doença gastrointestinal e má-absorção; doenças crônicas hepáticas ou renais; ou fazer uso de qualquer medicamento que pudesse interferir no metabolismo ósseo, incluindo suplementação de cálcio e vitaminas.

Controles

O grupo controle foi composto por crianças e adolescentes hígidos, pareados por idade e gênero com o grupo DGH, recrutados em escola da rede pública de ensino de Belo Horizonte (Instituto de Educação de Minas Gerais). Essa escola foi escolhida pelos pesquisadores por abranger a faixa etária de interesse, apresentar estrutura física adequada para a seleção dos alunos (possuía enfermaria onde os mesmos podiam ser avaliados) e pela sua localização próxima ao HC-UFMG, o que facilitava a logística do estudo. Para a seleção da amostra, os pesquisadores sortearam indivíduos da idade e gênero de interesse, na proporção de 2:1 com o grupo DGH, enviaram convite para os pais ou responsáveis dos sorteados e, aqueles que concordaram em participar do estudo, foram avaliados clinicamente.

A ausência de doença aguda ou crônica atual foi determinada por meio de anamnese e exame físico. Os critérios de exclusão foram: ter história progressiva de condição que pudesse ser prejudicial para a saúde óssea (prematuridade extrema ou

doença grave, por exemplo) apresentar baixo peso, baixa estatura, sobrepeso ou obesidade, de acordo com as curvas de referência da Organização Mundial da Saúde (OMS)³ e fazer uso de medicamentos, incluindo suplementação vitamínica e mineral.

4.3 Protocolo do estudo

A avaliação clínico-laboratorial de todos os participantes foi realizada pessoalmente, por pesquisadores treinados, numa mesma ocasião e consistiu de:

- Anamnese dirigida por questionários estruturados com investigação da idade, gênero, história pregressa e atual de doenças, uso de medicações e vitaminas, história de fratura, nível sócio-econômico, ingestão média diária de cálcio e calorias, hábitos de exposição ao sol e prática de atividade física (anexos 1,2,3,4,5).
- Exame físico com mensuração da pressão arterial sistêmica, avaliação da cor da pele, do estágio puberal e realização de antropometria: peso, altura e índice de massa corporal (IMC).
- Coleta de sangue para dosagem de cálcio total, fósforo, magnésio, fosfatase alcalina, ureia, creatinina, IGF-1, T4 livre, 25-OH vitamina D, paratormônio (PTH), osteoprotegerina (OPG), osteopontina (OPN) e fator de crescimento de fibroblastos-23 (FGF-23).
- Realização de raio-X de mão e punho esquerdos para avaliar a idade óssea pelo método de Greulich e Pyle⁴.
- Realização de densitometria óssea.
- Realização de ultrassonografia óssea quantitativa de falanges.

Avaliação clínica e antropométrica

Dados como a causa da DGH, idade de início do GH, dose e tempo de tratamento com GH, reposição de outras deficiências hormonais hipofisárias e adesão ao tratamento foram obtidos dos prontuários dos pacientes.

Duas ou mais fraturas no mesmo osso, causadas pelo mesmo trauma, foram contabilizadas como uma fratura. Foi considerado trauma de baixo impacto aquele causado por forças exercidas pelo indivíduo traumatizado (queda da própria altura, por exemplo), de acordo com a classificação proposta por Landin⁵.

A situação socioeconômica das famílias foi classificada utilizando-se o questionário desenvolvido pela Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (Critério de Classificação Econômica Brasil, 2012) (anexo 2)⁶.

Para avaliar o consumo alimentar habitual utilizou-se questionário quantitativo de frequência alimentar, recordatório alimentar do dia anterior à entrevista e recordatório de três dias não consecutivos posteriores à entrevista (anexo 3). Para tornar a avaliação mais acurada foi utilizado um livro de fotos com vários tipos de alimentos, preparações e tamanho das porções⁷. Utilizou-se o programa Dietpro[®] (versão 5i) para análise da ingestão diária de calorias e cálcio para cada método de avaliação e obteve-se a média da ingestão dos três métodos. A composição química dos alimentos foi obtida pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO v.II, 2.ed 2006, já disponível no programa. Segundo o *Institute of Medicine* (IOM), a ingestão dietética recomendada (RDA - *recommended dietary allowance*) diária de cálcio é de 1000 mg para crianças entre 4 e 8 anos, 1300 mg entre 9 e 18 anos e 1000 mg entre 19 e 20 anos de idade. Considerou-se ingestão deficiente de cálcio aquela que era menor que a necessidade média estimada (EAR - *estimated average requirement*), como recomendado⁸.

O hábito de exposição à luz solar foi avaliado por questionário específico adaptado⁹ e forneceu a média de horas que a criança permanecia exposta ao sol por semana (anexo 4). Foi considerada suficiente a exposição ao sol por mais de duas horas por semana¹⁰, independentemente do horário de exposição e utilizando trajes habituais. O hábito de se proteger do sol (como uso de filtro solar, boné e camiseta com manga que cobre os ombros) também foi avaliado pelo mesmo questionário⁹, com obtenção de escore que variava de 1 a 5. A proteção solar foi considerada suficiente quando o escore era superior a três.

Para avaliar a prática de atividade física das crianças utilizou-se o questionário de atividade física para crianças (PAQ-C) (anexo 5)¹¹. Esse questionário foi traduzido anteriormente para o português, modificado para exclusão de atividades esportivas não

praticadas no Brasil e validado. É composto por perguntas sobre a prática de esportes e jogos, atividades físicas na escola e no tempo de lazer, incluindo o final de semana. Cada questão tem valor de 1 a 5 e o escore final é obtido pela média das questões, variando de 1 (muito sedentário) a 5 (muito ativo). Os escores 2, 3 e 4 indicam as categorias sedentário, moderadamente ativo e ativo, respectivamente. Foram considerados ativos aqueles que tiveram escore ≥ 3 e sedentários os indivíduos com escore < 3 ¹². Além disso, foi contabilizado o tempo gasto por dia em atividades sedentárias (TV, computador e videogames).

A raça foi estabelecida por exame clínico, fundamentalmente de acordo com a cor da pele e categorizada inicialmente em quatro tipos: branca, parda, preta e amarela. Posteriormente, para fins de análise, as cores parda, preta e amarela foram agrupadas em categoria “não-branca”.

Os dados antropométricos foram obtidos com as crianças descalças e usando roupas leves. A estatura foi obtida no estadiômetro de Harpenden com precisão de 1 mm e o peso em balança digital com escala de 100 g. O IMC foi calculado pela fórmula peso (Kg) \div altura (m)². Os escores-Z de altura e IMC para idade foram obtidos a partir das curvas de referência da OMS³ utilizando os programas WHO Anthro[®] (versão 3.2.2) e WHO AnthroPlus[®] (versão 1.0.4). A idade altura foi definida como a idade em que a altura da criança estava na mediana. O estágio puberal foi avaliado pelos critérios de Tanner¹³.

Coleta e processamento das amostras

A coleta de sangue foi realizada no laboratório central do HC-UFMG, em veia periférica, entre 7 e 9 horas da manhã, após jejum de 12 horas. Todas as coletas foram realizadas durante o inverno para minimizar variações nas concentrações séricas da vitamina D.

As análises do cálcio total, fósforo, magnésio e ureia foram realizadas pelo método colorimétrico; da creatinina e fosfatase alcalina pelo método cinético enzimático e do T4 livre por quimioluminescência, todos no aparelho *Vitros 5600*, da *Johnson & Johnson (Rochester, NY, EUA)*. A dosagem do PTH foi feita pelo método de quimioluminescência no aparelho *Architect*, da *Abbott (Chicago, IL, EUA)*. Já as

dosagens da 25-OH vitamina D e do IGF-1 foram feitas pelo método de quimioluminescência no equipamento *Liaison* da *Diasorin* (*Saluggia*, Itália) em laboratório terceirizado. Os valores de referência e coeficientes de variação disponibilizados pelo laboratório estão listados no quadro 1.

Quadro 1: Valores de referência para a faixa etária estudada e coeficientes de variação dos parâmetros laboratoriais.

Parâmetros	Valores de referência	CV (%)
Cálcio total	8,8 a 10,8 ng/dL	1,31-3,61
Fósforo	3,7 a 5,8 mg/dL	0,89-2,76
Magnésio	1,6 a 2,3 mg/dL	1,51-3,0
Fosfatase alcalina	75 a 390 U/L	1,75-4,22
Ureia	15 a 36 mg/dL	1,52-2,74
Creatinina	0,5 a 0,8 mg/dL	2,15-6,52
IGF-1	Idade: Masculino: Feminino: 2 meses a 5 anos: 33,5 a 171,8 ng/mL 27,4 a 113,5 ng/mL 6 a 8 anos: 79,8 a 244,0 ng/mL 54,9 a 206,4 ng/mL 9 a 11 anos: 87,4 a 399,3 ng/mL 85,2 a 248,8 ng/mL 12 a 15 anos: 188,4 a 509,9 ng/mL 115,4 a 498,2 ng/mL 16 a 20 anos: 267,5 a 470,8 ng/mL 247,3 a 481,7 ng/mL	5,7
T4 livre	0,78 a 2,19 ng/dL	2,91-7,69
25-OH vitamina D	Deficiência: abaixo de 10 ng/mL, Insuficiência: 10 a 30 ng/mL Suficiência: 30 a 100 ng/mL, Toxicidade: maior que 100 ng/mL	9,0
PTH	15,0 a 68,3 pg/mL	7,03-7,77

CV: coeficientes de variação; IGF-1: fator de crescimento insulina-símile tipo 1; PTH: paratormônio.

Os participantes foram classificados em relação às concentrações séricas de vitamina D segundo recomendação da *Endocrine Society* (2011)¹⁴ em suficientes, quando iguais ou maiores que 30 ng/mL, insuficientes, quando entre 20 e 29 ng/mL e deficientes se abaixo de 20 ng/mL.

Para análise da OPG, OPN e do FGF-23 as amostras de sangue foram coletadas em tubos estéreis com gel separador e transportadas em ar ambiente até o Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica (LIIM) da Faculdade de Medicina da UFMG, onde foram feitos os ensaios imunoenzimáticos. Todas as amostras foram processadas

em até duas horas após a coleta, de acordo com o seguinte protocolo: centrifugação a 4° C na velocidade de 1000 x g por 20 minutos. O soro sobrenadante foi alíquotado em tubos estéreis de 0,5 ml e armazenado em freezer a -80° C até a data do ensaio (janeiro de 2014).

Ensaio imunoenzimático

As concentrações séricas de OPG e OPN foram avaliadas pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) sanduíche utilizando-se os kits da *R&D Systems* (Minneapolis, MN, EUA). A análise do FGF-23 foi realizada utilizando-se o kit *Human FGF-23 (c-Term) ELISA kit* da *Immutopics Inc* (San Clemente, CA, EUA). Os ensaios foram realizados de acordo com os protocolos determinados pelos fabricantes.

Para as análises da OPG e da OPN, à cada poço da placa de ELISA foram adicionados 100 µL de solução contendo anticorpo monoclonal contra OPG e OPN diluídos em solução de PBS (anticorpo de captura). As placas foram incubadas por pelo menos 12 horas a 4° C. Os anticorpos não aderidos nas placas foram descartados por inversão e lavagem em *PBS-Tween 0,1%* (*Sigma-Aldrich*, MO, EUA). Em seguida, as placas foram bloqueadas com uma solução contendo albumina de soro bovino (BSA) 1% (*Sigma-Aldrich*), durante 2 horas à temperatura ambiente (200 µL/poço). Após nova lavagem das placas (*PBS-Tween 0,1%*), em cada poço foi adicionado 100 µL das amostras ou da proteína padrão. As placas foram novamente incubadas por pelo menos 12 horas a 4° C e em seguida lavadas (*PBS-Tween 0,1%*). Após lavagem, as placas foram incubadas com anticorpos conjugados com biotina e diluídos em BSA 0,1%, por duas horas à temperatura ambiente. Em seguida, após nova lavagem (*PBS-Tween 0,1%*), acrescentou-se 100 µL/poço de estreptavidina conjugada com peroxidase às placas, que foram incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente. Finalmente, após nova lavagem (*PBS-Tween 0,1%*), adicionou-se o cromógeno Ø-fenileno-diamina (OPD) (*Sigma-Aldrich*) às placas, na ausência de luz. A reação foi interrompida com solução contendo ácido sulfúrico 1M. A leitura da intensidade de marcação foi realizada em leitor de ELISA no λ de 490 nm.

Para a dosagem do FGF-23, à placa já conjugada com o anticorpo de captura, foram adicionados, à cada poço, 100 µL do padrão ou das amostras. Em seguida, 50 µL

de solução contendo anticorpo biotinizado e estreptavidina foram adicionados na proporção de 1:1 a todos os poços. A placa foi selada e incubada por 3 horas. Após esse tempo a placa foi lavada 5 vezes com 350 µL de solução de lavagem. Adicionou-se em seguida 150 µL da solução de substrato tetrametilbenzidina (TMB) com peróxido de hidrogênio à placa. A mesma foi incubada por 30 minutos à temperatura ambiente. Transcorrido o tempo, a leitura da intensidade de marcação foi realizada em espectrofotômetro no λ de 620 nm. Imediatamente após a leitura, a reação enzimática foi interrompida (solução de ácido sulfúrico a 1M) e a placa foi novamente lida no λ de 450 nm.

Todas as leituras da intensidade de marcação foram realizadas em leitor de ELISA acoplado ao software SOFTmax Pro – versão 2.2.1 (Sunyvale, CA, EUA).

Avaliação da massa óssea

A DXA foi realizada no instituto Jenny de Andrade Faria (anexo do HC-UFMG), sempre pelo mesmo operador e no mesmo aparelho modelo *Discovery W* da marca *Hologic Inc.* (Waltham, MA, EUA), software versão APEX 3.3. As medidas densitométricas foram obtidas e interpretadas de acordo com as recomendações da *International Society for Clinical Densitometry* (2013)¹⁵. A coluna lombar (CL) entre as vértebras L1 e L4 e o corpo total sem a cabeça (CTsc) foram avaliados empregando-se técnicas de posicionamento padronizadas. Da CL foram obtidos os parâmetros de área óssea da coluna lombar (Área CL; em cm²) e conteúdo mineral ósseo de coluna lombar (CMO CL; em g) e calculou-se a densidade mineral óssea volumétrica estimada da coluna lombar (DMOv CL), em g/cm³, utilizando-se a fórmula: $DMOv\ CL = CMO\ CL \div \text{Área}\ CL$ ^{1,5}. Esse modelo matemático foi proposto por Carter et al., assumindo-se que a vértebra tenha um formato cubóide¹⁶ e o objetivo do cálculo é obter uma medida de densidade que sofre menos influência do tamanho corporal e que é mais apropriada para avaliação da criança e do adolescente em crescimento¹⁵. Já em relação ao CTsc, foram obtidos os seguintes parâmetros: conteúdo mineral ósseo de corpo total sem a cabeça (CMO CTsc; em g), massa magra corporal total (MMCT; em g) e porcentagem de gordura corporal total (% GCT; em %), sendo que o CMO CTsc foi expresso em escores-Z para idade e para altura, utilizando-se as curvas de referência pediátricas da *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) 2008, disponibilizadas pelo software do aparelho¹⁷. Essas curvas contém dados de referência do CMO CTsc para idades entre 8 e 20 anos e para alturas entre 120 e 192,5 cm, para ambos os gêneros

(anexo 6). Os participantes do estudo com menos de 8 anos de idade ou menos de 120 cm de altura não tiveram seus escores-Z calculados e por isso não foram incluídos nas análises desses dados padronizados. Os subgrupos analisados para essas variáveis permaneceram pareados por idade e gênero. A calibração da máquina foi realizada diariamente utilizando-se o *phantom* disponibilizado pelo fornecedor.

A USQ foi realizada no Centro Especializado em Ultrassonografia (CEU), sempre pelo mesmo examinador e no mesmo aparelho *DBM Sonic Bone Profiler*, modelo *BP01*, *IGEA Clinical Biophysics*, Carpi, Modena, Itália. Os parâmetros que avaliam o status ósseo foram medidos segundo o protocolo padrão do fabricante, na extremidade distal da diáfise das falanges proximais da mão não dominante, nos dedos de II a V. Os cêndilos na extremidade distal das diáfises são um ponto de referência para reprodução das medidas necessárias, pois contêm camada cortical, trabecular e pequeno canal medular, além de não possuir placa de crescimento, o que poderia ser uma fator confundidor. O sistema de medida deste equipamento é constituído de um compasso que acopla dois transdutores de 12 mm de diâmetro cada, um emissor e outro receptor, com alta precisão, de cerca de 0,02 milímetros. Os transdutores foram posicionados na superfície lateral de cada dedo, emitindo ondas sonoras de 1,25 MHz, rastreando as trabéculas ósseas. O equipamento forneceu, automaticamente, de forma não observador-dependente, as medidas de velocidade, amplitude e tempo de transmissão das ondas sonoras pelo osso. Os parâmetros AD-SoS (velocidade do som amplitude dependente - *amplitude-dependent speed of sound*) e BTT (tempo de transmissão óssea - *bone transmission time*) foram fornecidos a partir da média de 96 aquisições dos quatro dedos e expressos em escores-Z para idade e altura, utilizando-se as curvas de referência disponibilizadas pelo aparelho. Essas curvas foram construídas com dados de 3044 indivíduos italianos sadios de 2 a 21 anos de idade, de ambos os gêneros¹⁸. A colocação dos transdutores em posição correta é essencial para a reprodutibilidade das medidas. A precisão de curto prazo, foi avaliada, *in vivo*, medindo-se as variáveis ultrassonográficas em 10 adultos jovens sadios. Foram realizadas quatro medidas de cada um, após reposicionamento do transdutor, no mesmo dia e pelo mesmo operador. Os coeficientes de variação dos parâmetros AD-SoS e BTT foram calculados como descrito por Bonnick et al.¹⁹ e os valores encontrados foram de 0,56% e 2,30%, respectivamente.

O termo “status mineral ósseo”, já empregado por outros autores²⁰, foi utilizado para descrever a saúde óssea avaliada tanto pela DXA quanto pela USQ, já que essa

última não avalia apenas a massa ou a densidade óssea, mas também outros parâmetros relacionados à qualidade óssea. O indivíduo foi considerado como tendo baixo status mineral ósseo quando a medida era menor ou igual a -2 desvios-padrão, em qualquer dos dois métodos, como já utilizado anteriormente²¹.

4.4 Análise estatística

As variáveis quantitativas foram descritas como média e desvio-padrão (DP) quando tinham distribuição normal e mediana e intervalo interquartil (IQR=Q3-Q1) quando não tinham distribuição normal. A normalidade das variáveis foi verificada pelo teste de Shapiro Wilk. As comparações entre duas variáveis quantitativas foram realizadas pelos testes T de Student (quando tinham distribuição normal) e teste de Mann Whitney (distribuição não normal). O teste T univariado foi utilizado para comparar médias dos escores-Z com populações de referência. Para comparações entre três grupos foi utilizado o teste de Kruskal Wallis (distribuição não normal). Quando o resultado foi significativo ao nível de 0,05 utilizou-se o teste de Mann Whitney com correção de Bonferroni, assim o nível de significância foi de 0,017.

Para comparar o desvio-padrão (variabilidade) entre dois grupos foi utilizado o teste de Levine.

As variáveis qualitativas foram expressas em frequências absolutas e porcentagem. As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste Qui-quadrado de Pearson Assintótico (20% dos valores esperados estavam entre 1 e 5 e 80% maiores ou iguais a 5).

Para análise de associação entre as variáveis quantitativas do estudo, utilizou-se o teste de correlação de Pearson quando as variáveis tinham distribuição normal e o teste de correlação de Spearman quando não tinham distribuição normal.

Para se estimar o valor de uma variável quantitativa em função de outra utilizou-se o modelo de regressão linear simples. Tomou-se o cuidado de não utilizar no modelo ajustado os dados da criança para a qual a estimativa seria obtida. Calculou-se o escore-Z da medida estimada pela fórmula: $\text{escore-Z} = \text{medida estimada} - \text{média populacional da medida} / \text{DP}$.

Para análise de concordância entre os métodos de densitometria e ultrassonografia no diagnóstico de baixo status mineral ósseo foi utilizado o índice Kappa. Finalmente, para medir o poder da ultrassonografia de discriminar indivíduos com baixo status mineral ósseo pela DXA, considerada o método padrão-ouro, utilizou-se a curva ROC (*receiver operating characteristic curve*).

Os gráficos utilizados para descrever os achados mais importantes foram Box-plot, gráfico de dispersão e gráfico de pontos. O nível de significância utilizado foi de 0,05. Toda a análise estatística foi realizada no software SPSS, versão 20.0, exceto o teste de variabilidade que foi realizado no programa Minitab, versão 16.1.1.

4.5 Aspectos éticos

O Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG aprovou o estudo mediante parecer de número 327.308 (anexo 7). Todos os participantes e seus responsáveis foram esclarecidos sobre a natureza do estudo por meio da leitura e análise do termo de consentimento livre e esclarecido. Os pacientes portadores de DGH e as crianças e adolescentes saudáveis foram incluídos no estudo somente mediante concordância e assinatura do termo de consentimento por parte do responsável e do próprio paciente, conforme a idade (anexo 8). O protocolo de pesquisa não interferiu com qualquer recomendação ou prescrição médica. Ressalta-se, ainda, que o seguimento clínico-laboratorial e a abordagem terapêutica dos pacientes seriam assegurados, mesmo no caso de recusa em participar do estudo. Além disso, após os resultados da avaliação clínico-laboratorial, todos os participantes foram orientados e tratados de acordo com a necessidade.

Referências

1. Paula LP, Czepielewski MA. [Evaluating diagnosis methods on childhood GH (DGH) deficiency: IGFs, IGFbps, releasing tests, GH rhythm and image exams]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008;52(5):734-44.
2. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of growth hormone (GH) deficiency in childhood and adolescence: summary statement of the GH Research Society. GH Research Society. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(11):3990-3.
3. The WHO Child Growth Standards <http://www.who.int/childgrowth/en/> [07-14-2014].
4. Greulich WW, Pyle SI. Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist 1959. 2nd edition. Stanford University Press, Stanford, California.
5. Landin LA. Fracture patterns in children. Analysis of 8,682 fractures with special reference to incidence, etiology and secular changes in a Swedish urban population 1950-1979. *Acta Orthop Scand Suppl.* 1983;202:1-109.
6. ABEP, Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. Critério de classificação econômica Brasil, 2012 <http://www.abep.org>.
7. Monteiro JP, Pfrimer K, Tremeschin MH, Molina MC, Chiarello P. Consumo Alimentar. Visualizando porções. 2007.
8. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(1):53-8.
9. Glanz K, Yaroch AL, Dancel M, Saraiya M, Crane LA, Buller DB, et al. Measures of sun exposure and sun protection practices for behavioral and epidemiologic research. *Arch Dermatol.* 2008;144(2):217-22.
10. Specker BL, Valanis B, Hertzberg V, Edwards N, Tsang RC. Sunshine exposure and serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in exclusively breast-fed infants. *J Pediatr.* 1985;107(3):372-6.
11. Crocker PR, Bailey DA, Faulkner RA, Kowalski KC, McGrath R. Measuring general levels of physical activity: preliminary evidence for the Physical Activity Questionnaire for Older Children. *Med Sci Sports Exerc.* 1997;29(10):1344-9.
12. da Silva RC, Malina RM. Nível de atividade física em adolescentes do Município de Niterói, Rio de Janeiro. 2000;16:1091-7.
13. Tanner JM. Physical growth and development. In: Forfar JO, Arnell CC, editors. *Textbook of pediatrics.* Churchill, Livingstone, Edinburgh. 1978. p. 249-303.
14. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1911-30.

15. Crabtree NJ, Arabi A, Bachrach LK, Fewtrell M, El-Hajj Fuleihan G, Kecskemethy HH, et al. Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Interpretation and Reporting in Children and Adolescents: The Revised 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):225-42.
16. Carter DR, Bouxsein ML, Marcus R. New approaches for interpreting projected bone densitometry data. *J Bone Miner Res.* 1992;7(2):137-45.
17. Kelly TL, Wilson KE, Heymsfield SB. Dual energy X-Ray absorptiometry body composition reference values from NHANES. *PLoS One.* 2009;4(9):e7038.
18. Baroncelli GI, Federico G, Vignolo M, Valerio G, del Puente A, Maghnie M, et al. Cross-sectional reference data for phalangeal quantitative ultrasound from early childhood to young-adulthood according to gender, age, skeletal growth, and pubertal development. *Bone.* 2006;39(1):159-73.
19. Bonnicksen SL, Johnston CC, Jr., Kleerekoper M, Lindsay R, Miller P, Sherwood L, et al. Importance of precision in bone density measurements. *J Clin Densitom.* 2001;4(2):105-10.
20. Baroncelli GI. Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application. *Pediatr Res.* 2008;63(3):220-8.
21. Williams JE, Wilson CM, Biassoni L, Suri R, Fewtrell MS. Dual energy x-ray absorptiometry and quantitative ultrasound are not interchangeable in diagnosing abnormal bones. *Arch Dis Child.* 2012;97(9):822-4.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Artigo original 1

Saúde óssea de crianças e adolescentes com deficiência de hormônio do crescimento em tratamento: avaliação laboratorial, densitométrica e ultrassonográfica

RESUMO

Introdução: Grande parte da massa óssea de um indivíduo é adquirida durante a infância e a adolescência. A deficiência de hormônio do crescimento (DGH) pode prejudicar esse processo. É controverso se a reposição hormonal adequada durante essa fase da vida é suficiente para reverter o impacto negativo da doença sobre o osso.

Objetivos: Avaliar a saúde óssea de crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com hormônio do crescimento (GH), por meio da densitometria (DXA), da ultrassonografia óssea quantitativa (USQ) de falanges e do estudo do metabolismo ósseo, comparando com indivíduos saudáveis da mesma faixa etária. Avaliar o desempenho da USQ de falanges em relação à DXA.

Métodos: Foram selecionados 36 crianças e adolescentes com DGH, em reposição hormonal adequada, com idades entre 4 e 20 anos incompletos, acompanhados na divisão de Endocrinologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG) e 45 indivíduos saudáveis pareados por idade e gênero. Foram excluídos aqueles com doenças ou em uso de medicamentos interferentes do metabolismo ósseo. O protocolo do estudo consistiu em avaliação da ingestão de cálcio, exposição ao sol e prática de atividade física; avaliação laboratorial do metabolismo ósteo-mineral e estudo da quantidade e qualidade ósseas pela DXA e USQ de falanges. A DXA foi realizada no aparelho *Discovery W, Hologic* e a USQ no aparelho *DBM Sonic, IGEA*. A análise estatística incluiu testes de comparação (T de Student, Mann Whitney ou Qui-quadrado de Pearson Assintótico, quando apropriados), testes de correlação (de Pearson ou de Spearman), o teste de regressão linear simples, o teste de concordância Kappa e a curva ROC. Os dados foram analisados no software SPSS, com nível de significância de 0,05. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (COEP) da UFMG.

Resultados: Não houve diferença em relação à idade, gênero, peso, estágio puberal, raça e classe socioeconômica entre o grupo DGH e os controles. Os pacientes (27 meninos, média de idade de $12,3 \pm 4,3$ anos) faziam uso de GH por tempo mediano de 3,7 anos, mas eram significativamente mais baixos do que seus pares. O grupo com DGH ingeria menos cálcio e era menos ativo em relação aos controles. Detectou-se elevada prevalência de hipovitaminose D em ambos os grupos. Os pacientes com DGH não mostraram evidência clínica de fragilidade óssea. A avaliação pela DXA e pela USQ de falanges foi semelhante entre os grupos quando as variáveis foram ajustadas para a altura. Os pacientes que consumiam menor quantidade de cálcio tiveram uma pior avaliação quantitativa e qualitativa da massa óssea para a idade. Houve uma forte correlação positiva entre as variáveis medidas pela DXA e pela USQ de falanges e uma

concordância significativa entre os métodos após ajuste das populações de referência. A USQ de falanges demonstrou ótimo desempenho diagnóstico pela curva ROC.

Conclusões: Apesar dos fatores e comportamentos considerados de risco para a saúde óssea, os pacientes com DGH em tratamento apresentaram quantidade e qualidade ósseas para altura, comparáveis às crianças saudáveis. A USQ de falanges se mostrou uma técnica confiável em relação à DXA, mas que também demanda cuidados na interpretação dos achados em crianças com baixa estatura.

Palavras-chave: hormônio do crescimento, deficiência; doença óssea, metabólica; vitamina D; densitometria; ultrassonografia.

ABSTRACT

Introduction: Much of a subject's bone mass is acquired during childhood and adolescence. Growth hormone deficiency (GHD) may be detrimental to this process. It is controversial if adequate hormone replacement during this phase of life is enough to reverse the negative impact of the disease on bone.

Objectives: To assess bone health in children and adolescents with GHD, treated with growth hormone (GH), through densitometry (DXA), quantitative bone ultrasound (QUS) of the phalanges and the study of bone metabolism, comparing with healthy subjects from the same age. To evaluate the performance of phalangeal QUS in relation to DXA.

Methods: Thirty six children and adolescents with GHD, on appropriate hormone replacement, aged between 4 and 20 years of old and followed at the Pediatric Endocrinology Clinic of Hospital das Clinicas at Federal University of Minas Gerais (HC-UFMG), were selected. Forty five healthy subjects matched for age and sex were recruited. Subjects with diseases or in use of drugs that interfere in bone metabolism were excluded. Research protocol consisted of evaluation of calcium intake, sun exposure and physical activity; laboratory evaluation of bone-mineral metabolism and study of bone quantity and quality by DXA and QUS of phalanges. DXA was performed on Discovery W, Hologic and QUS on DBM Sonic, IGEA equipment. Statistical analysis included comparison tests (Student's T, Mann Whitney or Asymptotic Pearson's chi-square, when appropriate), correlation tests (Pearson's or Spearman's), the simple linear regression test, the Kappa test and the ROC curve. Data were analyzed using SPSS software, with a significance level of 0.05. The study was approved by the local research ethics committee (COEP) of UFMG.

Results: There was no difference regarding age, sex, weight, pubertal stage, race and socioeconomic class between GHD group and the controls. Patients (27 boys, mean age 12.3 ± 4.3 years) were using GH for a median period of 3.7 years, but they were significantly shorter than their peers. The GHD group consumed less calcium and was less active in relation to controls. A high prevalence of hypovitaminosis D was found in both groups. No clinical evidence of bone fragility was demonstrated. DXA and phalangeal QUS evaluations were similar for both groups when variables were adjusted for height. Patients with lower calcium consumption showed worse bone mass ratings for age. There was a strong positive correlation between the variables measured by DXA and those measured by QUS of phalanges and a significant agreement between the two methods after reference population adjustments. QUS of phalanges demonstrated good diagnostic performance by ROC curve.

Conclusions: Despite the presence of several risk factors for bone health, GHD patients, on GH treatment, showed bone quantity and quality for height comparable to healthy children. QUS of phalanges was found to be a reliable technique in relation to DXA, but it also requires care in the assessment of children with short stature.

Keywords: growth hormone, deficiency; bone disease, metabolic; vitamin D; densitometry; ultrasonography.

Introdução

Grande parte da massa óssea de um indivíduo é adquirida durante a infância e a adolescência até que se atinja o pico de massa óssea (PMO) no início da vida adulta. Essa fase da vida é, portanto, um período crítico de oportunidade, mas também de vulnerabilidade para a saúde esquelética futura¹. O PMO é um dos principais determinantes do risco de osteoporose e fraturas e está sob forte controle genético², além de ser determinado por fatores modificáveis como hábitos alimentares, atividade física, estado nutricional e equilíbrio hormonal do indivíduo³. Devido em parte à maior sobrevivência de crianças com doenças crônicas e à exposição das mesmas a tratamentos potencialmente tóxicos ao esqueleto, a osteoporose está cada vez mais sendo identificada em indivíduos mais jovens⁴. Em casos graves de baixa massa óssea na infância, a criança já pode apresentar fraturas. Em formas mais leves e crônicas, a criança assintomática pode não atingir o seu potencial de massa óssea geneticamente determinado e terá elevado risco de osteoporose na idade adulta⁵.

Crianças com deficiência de hormônio do crescimento (DGH) podem reunir inúmeros fatores que contribuem para uma elevada morbidade óssea. Além da DGH, outras deficiências hormonais hipofisárias e suas respectivas terapias de reposição, podem contribuir com o dano ósseo⁶. Vários autores já demonstraram que a saúde óssea dessas crianças é comprometida, com prejuízo da quantidade e qualidade ósseas, mesmo quando é feito o ajuste para o tamanho das crianças⁶⁻⁸. Entretanto, massa óssea adequada para altura também já foi observada^{9, 10}. Em uma revisão recente, Hogler et al.¹¹ argumentaram que a DGH é erroneamente percebida como uma causa de baixa densidade mineral óssea e osteoporose secundária na criança. Na verdade, a saúde óssea de crianças e adolescentes com DGH é documentada de maneira insuficiente, às vezes de forma equivocada e os estudos são controversos.

A densitometria ou absorciometria por duplo feixe de raios-X (DXA) tem sido o método mais utilizado para avaliar a saúde óssea do adulto e também da criança e do adolescente. Porém, a ultrassonografia óssea quantitativa (USQ) tem surgido como uma modalidade de avaliação alternativa, com as vantagens de ser feita em aparelho portátil, ser não invasiva, ser barata, de rápida realização, livre de radiação, além de fornecer uma avaliação qualitativa do osso¹². Possui boa correlação com a DXA¹³ e se mostrou comparável a ela na determinação do risco de fratura óssea^{14, 15}.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a saúde óssea de crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com hormônio do crescimento (GH), por meio de parâmetros bioquímicos, da DXA e da USQ de falanges, comparando os achados com indivíduos saudáveis da mesma faixa etária. Procurou-se, também, avaliar o desempenho da USQ de falanges em relação à DXA na identificação de comprometimento ósseo dos participantes.

Pacientes e métodos

Desenho do estudo

Trata-se de estudo transversal, utilizando uma amostra de conveniência que incluiu 36 pacientes com diagnóstico confirmado de DGH em tratamento e 45 indivíduos saudáveis, pareados por idade e gênero, como grupo controle.

População

Pacientes

Foram incluídos todos os pacientes com idades entre quatro e 20 anos incompletos, com diagnóstico confirmado de DGH clássica e em tratamento com GH, que estavam em acompanhamento regular na divisão de Endocrinologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG), durante o período da coleta de material para o estudo (abril a setembro de 2013) e que não preenchiam nenhum critério de exclusão.

O diagnóstico de DGH foi realizado de acordo com critérios rígidos estabelecidos pelas literaturas nacional e internacional^{16, 17}: baixa estatura (score-Z de altura < -2 desvios-padrão para idade e gênero), baixa velocidade do crescimento (percentil da velocidade de crescimento < 25 para idade e gênero), baixo IGF-1 (score-Z do IGF-1 < -2 desvios-padrão para idade e gênero) e falha em mostrar uma concentração sérica de GH > 5 µg/L (medido por ensaio de quimioluminescência) após dois testes provocativos com estímulo pela clonidina (0,15 mg/m²) e pela insulina (0,05 U/Kg). Ressonância magnética de crânio com estudo da sela túrcica foi realizada em

todos os pacientes para ajudar na confirmação do diagnóstico e avaliar a causa da doença.

Todos os pacientes estavam em tratamento regular com GH na dose média de $28 \pm 3,3 \mu\text{g/Kg/dia}$ ($0,62 \pm 0,07 \text{ U/Kg/sem}$), em seis ou sete aplicações semanais, via subcutânea. A dose do GH era ajustada para manter as concentrações de IGF-1 dentro dos valores de referência para a faixa etária e estava de acordo com a dose recomendada para o tratamento da DGH durante a fase de crescimento ($25\text{-}50 \mu\text{g/Kg/dia}$ ou $0,52\text{-}1,05 \text{ U/Kg/sem}$)¹⁷.

Os pacientes que apresentavam outras deficiências hormonais hipofisárias, além da DGH, estavam recebendo terapia de reposição adequada há pelo menos seis meses. Os pacientes com deficiência de TSH, ACTH e ADH faziam uso de levotiroxina via oral (posologia para manter o T4 livre sérico dentro dos valores de referência), acetato de hidrocortisona via oral ($10\text{mg/m}^2/\text{dia}$) e desmopressina via intranasal (posologia para manter osmolaridade sérica adequada), respectivamente. Apenas pacientes do sexo masculino tinham deficiência de LH e FSH confirmada à época do estudo. Neste caso, todos estavam em uso de testosterona via intramuscular, iniciada a partir de 14 anos de idade, em doses crescentes para mimetizar o desenvolvimento puberal normal.

Os critérios de exclusão utilizados no estudo foram: não estar em reposição hormonal adequada; apresentar doenças ósseas congênitas ou adquiridas; história de doença gastrointestinal e má-absorção; doenças crônicas hepáticas ou renais ou fazer uso de qualquer medicamento que pudesse interferir no metabolismo ósseo, incluindo suplementação de cálcio e vitaminas.

Controles

O grupo controle foi composto por crianças e adolescentes hígidos, pareados por idade e gênero com o grupo DGH, recrutados em escola da rede pública de ensino. A participação no estudo foi voluntária.

A ausência de doença atual foi determinada por meio de anamnese e exame físico. Os critérios de exclusão foram: ter história pregressa de condição que pudesse ser prejudicial para a saúde óssea (prematuridade extrema ou doença grave, por exemplo)

apresentar baixo peso, baixa estatura, sobrepeso ou obesidade, de acordo com as curvas de referência da Organização Mundial da Saúde (OMS)¹⁸ e fazer uso de medicamentos, incluindo suplementação vitamínica e mineral.

Protocolo do estudo

A avaliação clínico-laboratorial dos participantes foi realizada pessoalmente, por pesquisadores treinados, numa mesma ocasião e consistiu de:

- Anamnese dirigida por questionários estruturados com investigação da idade, gênero, história pregressa e atual de doenças, uso de medicações e vitaminas, história de fratura, nível sócio-econômico, ingestão média diária de cálcio e calorias, hábitos de exposição ao sol e prática de atividade física.
- Exame físico com mensuração da pressão arterial sistêmica, avaliação da cor da pele, do estágio puberal e realização de antropometria: peso, altura e índice de massa corporal (IMC).
- Coleta de sangue para dosagem de cálcio total, fósforo, magnésio, fosfatase alcalina, ureia, creatinina, IGF-1, T4 livre, 25-OH vitamina D e paratormônio (PTH).
- Realização de raio-X de mão e punho esquerdos para avaliar a idade óssea pelo método de Greulich e Pyle¹⁹.
- Realização de DXA.
- Realização de USQ de falanges.

Avaliação clínica e antropométrica

Dados como a causa da DGH, idade de início do GH, dose e tempo de tratamento com GH, reposição de outras deficiências hormonais hipofisárias e adesão ao tratamento foram obtidos dos prontuários dos pacientes.

A situação socioeconômica das famílias foi avaliada pelo Critério de Classificação Econômica Brasil, de 2012²⁰.

Para avaliar o consumo alimentar habitual utilizou-se questionário quantitativo de frequência alimentar, recordatório alimentar do dia anterior à entrevista e recordatório de três dias não consecutivos posteriores à entrevista. Utilizou-se o programa Dietpro[®] (versão 5i) para análise da ingestão diária de calorias e cálcio para cada método de avaliação e obteve-se a média da ingestão dos três métodos. Segundo o *Institute of Medicine* (IOM), a ingestão dietética recomendada (RDA - *recommended dietary allowance*) diária de cálcio é de 1000 mg para crianças entre 4 e 8 anos, 1300 mg entre 9 e 18 anos e 1000 mg entre 19 e 20 anos de idade. Considerou-se ingestão deficiente de cálcio aquela que era menor que a necessidade média estimada (EAR - *estimated average requirement*), como recomendado²¹.

O hábito de exposição à luz solar foi avaliado por questionário específico adaptado e forneceu a média de horas que a criança permanecia exposta ao sol por semana²². Foi considerada suficiente a exposição ao sol por mais de duas horas por semana²³. O hábito de se proteger do sol (como uso de filtro solar, boné, camiseta com manga que cobre os ombros) também foi avaliado pelo mesmo questionário²², com obtenção de escore que variava de 1 a 5. A proteção solar foi considerada suficiente quando o escore era superior a três.

Para avaliar a prática de atividade física das crianças utilizou-se o questionário de atividade física para crianças (PAQ-C)²⁴, modificado e validado no Brasil. Cada questão tem valor de 1 a 5 e o escore final é obtido pela média das questões, variando de 1 (muito sedentário) a 5 (muito ativo). Foram considerados ativos aqueles que tiveram escore ≥ 3 e sedentários os indivíduos com escore < 3 ²⁵. Além disso, foi contabilizado o tempo gasto por dia em atividades sedentárias (TV, computador e videogames).

Os dados antropométricos foram obtidos com as crianças usando roupas leves e sem sapatos. A estatura foi obtida no estadiômetro de Harpenden com precisão de 1 mm e o peso em balança digital com escala de 100 g. O IMC foi calculado pela fórmula peso (Kg) \div altura (m)². Os escores-Z de peso, altura e IMC para idade foram obtidos a partir das curvas de referência da OMS¹⁸ utilizando os programas WHO Anthro[®] (versão 3.2.2) e WHO AnthroPlus[®] (versão 1.0.4). A idade altura foi definida como a idade em

que a altura da criança estava na mediana. O estágio puberal foi avaliado pelos critérios de Tanner²⁶.

Coleta e processamento das amostras

A coleta de sangue foi realizada em veia periférica, entre 7 e 9 horas da manhã, após jejum de 12 horas. Todas as coletas foram realizadas durante o inverno para minimizar variações nas concentrações séricas da vitamina D.

As análises do cálcio total (VR: 8,8-10 ng/dL), fósforo (VR: 3,7-5,8 mg/dL), magnésio (VR: 1,6-2,3 mg/dL) e ureia (VR: 15-36 mg/dL) foram realizadas pelo método colorimétrico; da creatinina (VR: 0,5-0,8 mg/dL) e fosfatase alcalina (VR: 75-390 U/L) pelo método cinético enzimático e do T4 livre (VR: 0,78-2,19 ng/dL) por quimioluminescência, todos no aparelho *Vitros 5600*, da *Johnson & Johnson* (Rochester, NY, EUA). A dosagem do PTH (VR: 15,0-68,3 pg/mL) foi feita pelo método de quimioluminescência no aparelho *Architect*, da *Abbott* (Chicago, IL, EUA). Já as dosagens da 25-OH vitamina D e do IGF-1 (VR: 27,4-509,9 ng/mL de acordo com a faixa etária e o gênero) foram feitas pelo método de quimioluminescência no equipamento *Liaison* da *Diasorin* (Saluggia, Itália) em laboratório terceirizado. Os coeficientes de variação de todos os analitos foram menores do que o máximo recomendado para o período.

Os participantes foram classificados em relação às concentrações séricas de vitamina D, segundo recomendação da *Endocrine Society* (2011)²⁷, em suficientes, quando iguais ou maiores que 30 ng/mL, insuficientes, quando entre 20 e 29 ng/mL e deficientes se abaixo de 20 ng/mL.

Avaliação da massa óssea

A DXA foi realizada sempre pelo mesmo operador e no mesmo aparelho modelo *Discovery W* da marca *Hologic Inc.* (Waltham, MA, EUA), software versão APEX 3.3. Da coluna lombar (CL) foram obtidos os seguintes parâmetros: área óssea da coluna lombar (Área CL; em cm²) e conteúdo mineral ósseo de coluna lombar (CMO CL; em g), a partir dos quais calculou-se a densidade mineral óssea volumétrica estimada da

coluna lombar (DMOv CL), em g/cm^3 utilizando-se a fórmula: $\text{DMOv CL} = \text{CMO CL} \div \text{Área CL}^{1,5}$. Esse modelo matemático foi proposto por Carter et al., assumindo-se que a vértebra tenha um formato cubóide²⁸. Já do corpo total (CT), foram obtidos o conteúdo mineral ósseo de corpo total sem a cabeça (CMO CTsc; em g), a massa magra corporal total (MMCT; em g) e a porcentagem de gordura corporal total (% GCT; em %). O CMO CTsc foi expresso em escores-Z para idade e para altura conforme recomendação da *International Society for Clinical Densitometry* (2013)²⁹. Os escores-Z foram fornecidos automaticamente pelo aparelho, a partir das curvas de referência pediátricas da *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), 2008³⁰. Essas curvas contém dados de referência do CMO CTsc para idades entre 8 e 20 anos e para alturas entre 120 e 192,5 cm, para ambos os gêneros. Os participantes do estudo com menos de 8 anos de idade ou menos de 120 cm de altura não tiveram seus escores-Z calculados e por isso não foram incluídos nas análises desses dados padronizados. Os subgrupos analisados para essas variáveis permaneceram pareados por idade e gênero.

A USQ foi realizada sempre pelo mesmo examinador e no mesmo aparelho *DBM Sonic Bone Profiler*, modelo *BP01*, *IGEA Clinical Biophysics*, Carpi, Modena, Itália. Os parâmetros que avaliam o status ósseo foram medidos segundo o protocolo padrão do fabricante, na extremidade distal da diáfise das falanges proximais da mão não dominante, nos dedos de II a V. O equipamento forneceu automaticamente as medidas da velocidade do som amplitude dependente (AD-SoS - *amplitude dependent speed of sound*) e do tempo de transmissão óssea (BTT - *bone transmission time*), que foram expressas em escores-Z para idade e altura, a partir de curvas de referência contidas no software do aparelho. Essas curvas de referência foram construídas com dados de 3044 indivíduos italianos saudáveis de 2 a 21 anos de idade, de ambos os gêneros³¹. Os coeficientes de variação das medidas foram calculados como descrito por Bonnick et al.³² e os valores encontrados foram de 0,56% para a AD-SoS e de 2,30% para o BTT.

O termo “status mineral ósseo”, já empregado por outros autores¹², foi utilizado para descrever a saúde óssea avaliada tanto pela DXA quanto pela USQ, já que essa última não avalia apenas a massa ou a densidade óssea, mas também outros parâmetros relacionados à qualidade óssea. O indivíduo foi considerado como tendo baixo status mineral ósseo quando a medida era menor ou igual a -2 desvios-padrão, em qualquer dos dois métodos, como já utilizado anteriormente³³.

Análise estatística

As variáveis quantitativas foram descritas como média e desvio-padrão (DP) quando tinham distribuição normal e mediana e intervalo interquartil (IQR=Q3-Q1) quando não tinham distribuição normal. A normalidade das variáveis foi verificada pelo teste de Shapiro Wilk. As comparações das variáveis quantitativas foram realizadas pelos testes T de Student (quando tinham distribuição normal) e teste de Mann Whitney (distribuição não normal). O teste T univariado foi utilizado para comparar médias dos escores-Z com populações de referência.

As variáveis qualitativas foram expressas em frequências absolutas e porcentagem. As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste Qui-quadrado de Pearson Assintótico (20% dos valores esperados estavam entre 1 e 5 e 80% maiores ou iguais a 5).

Para análise de associação entre as variáveis quantitativas do estudo, utilizou-se o teste de correlação de Pearson quando as variáveis tinham distribuição normal e o teste de correlação de Spearman quando não tinham distribuição normal.

Para se estimar o valor de uma variável quantitativa em função de outra utilizou-se o modelo de regressão linear simples. Tomou-se o cuidado de não utilizar no modelo ajustado os dados da criança para a qual a estimativa seria obtida. Calculou-se o escore-Z da medida estimada pela fórmula: $\text{escore-Z} = \frac{\text{medida estimada} - \text{média populacional da medida}}{\text{DP}}$.

Para análise de concordância entre os métodos de densitometria e ultrassonografia no diagnóstico de baixo status mineral ósseo foi utilizado o índice Kappa. Finalmente, para medir o poder da ultrassonografia em discriminar esses indivíduos, considerando a densitometria o método padrão-ouro, utilizou-se a curva ROC (*receiver operating characteristic curve*).

O nível de significância utilizado foi de 0,05. Toda a análise estatística foi realizada no software SPSS, versão 20.0.

Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG. Os participantes foram incluídos no estudo somente mediante concordância e assinatura do termo de consentimento por parte do responsável e do próprio paciente, conforme a idade.

Resultados

Caracterização do grupo DGH e comparação com grupo controle

Um total de 37 crianças e adolescentes com diagnóstico de DGH clássica, em reposição hormonal adequada e com idades entre quatro e 20 anos incompletos, faziam acompanhamento regular na divisão de Endocrinologia Pediátrica do HC-UFMG, à época do estudo e foram recrutados. Uma adolescente de 13 anos de idade teve que ser excluída da amostra por fazer uso de medicação anti-convulsivante interferente do metabolismo ósseo. Dessa forma, 36 pacientes com DGH foram comparados com 45 indivíduos saudáveis, totalizando 81 participantes no estudo.

Entre os 36 pacientes com DGH, 27 eram do sexo masculino e a média de idade foi de $12,3 \pm 4,3$ anos, variando de 4 a 19 anos. A idade média de início do GH foi de $7,86 \pm 4,79$ anos. A mediana do tempo de uso do GH foi de 3,70 (IQR: 4,60) anos. Dezenove pacientes (52,8%) ainda apresentavam altura abaixo do -2 DP para a idade à época do estudo e vinte e oito (77,8%) apresentavam uma ou mais deficiências hormonais hipofisárias, além da DGH e estavam recebendo terapia de reposição adequada, conforme critério de inclusão. Vinte e seis tinham diagnóstico de hipotireoidismo, 21 de hipocortisolismo, 7 de hipogonadismo e 3 de diabetes insipidus. Os outros oito pacientes com DGH isolada tinham alteração de sela túrcica à ressonância magnética de crânio, evidenciando hipófise hipoplásica e neuro-hipófise ectópica. Do total, trinta e um pacientes (86,1%) tinham hipopituitarismo congênito, os outros cinco restantes apresentavam a forma adquirida da doença, secundária à remoção cirúrgica de lesão no sistema nervoso central (craniofaringioma, meduloblastoma ou adenoma) (anexo 9).

Foram realizadas análises comparativas das principais variáveis estudadas entre os participantes com DGH isolada e aqueles com hipopituitarismo. Como não houve diferença entre os dois grupos, o restante das análises foi realizado levando-se em consideração o grupo total de pacientes.

Quando foram realizadas comparações entre o grupo com DGH e o grupo controle, não houve diferença significativa em relação à idade ($p=0,939$) e gênero ($p=0,221$), mostrando um pareamento adequado. Os pacientes com DGH eram significativamente mais baixos para a idade em relação ao grupo controle ($p<0,0001$) e a idade óssea era significativamente mais atrasada ($p=0,049$). Os demais parâmetros sociodemográficos (raça e classe socioeconômica) e antropométricos (peso, escore-Z do IMC para idade e estágio puberal) não diferiram entre os dois grupos (tabela 1).

Tabela 1: Comparação dos parâmetros sociodemográficos e antropométricos entre os grupos DGH e controle.

Parâmetros	DGH n=36	Controle n=45	Valor p
Idade (anos) [#]	12,3 ± 4,3	12,2 ± 4,1	0,939 (1)
Idade altura (anos) [#]	9,6 ± 3,5	12,3 ± 4,1	0,003 (1)
Idade óssea (anos) [*]	9,2 (7,8)	11,5 (7,5)	0,049 (2)
Gênero**			
Feminino	9 (25,0)	17 (37,8)	0,221 (3)
Masculino	27 (75,0)	28 (62,2)	
Classe socioeconômica**			
A2 + B1 + B2	12 (33,3)	22 (48,9)	0,159 (3)
C1 + C2 + D	24 (66,7)	23 (51,1)	
Raça**			
Branca	9 (25)	13 (28,9)	0,696 (3)
Não Branca	27 (75)	32 (71,1)	
Dados antropométricos			
Peso (Kg) [#]	39,9 ± 13,7	35,5 ± 13,2	0,149 (1)
Altura (cm) [#]	136,2 ± 20,8	149,2 ± 20,5	0,006 (1)
Altura (Z) [#]	-1,93 ± 1,69	0,12 ± 0,92	<0,0001 (1)
IMC (Z) [#]	-0,04 ± 1,5	-0,49 ± 0,78	0,107 (1)
Estádio puberal (Tanner)**			
1	20 (55,6)	16 (35,6)	0,198 (3)
2-3	6 (16,7)	11 (24,4)	
4-5	10 (27,8)	18 (40,0)	

DGH: Deficiência de hormônio do crescimento; IMC: índice de massa corporal.

[#] Valores expressos em média e desvio-padrão; (1) Teste T;

^{*} Valores expressos em mediana e intervalo interquartil; (2) Teste de Mann Whitney;

^{**}Valores expressos em número e porcentagem; (3) Teste Qui-quadrado de Pearson Assintótico.

Os participantes do grupo DGH consumiam, em média, quantidade diária significativamente mais baixa de calorias ($p=0,004$) e de cálcio ($p=0,016$) por dia, em relação aos controles da mesma idade. O consumo de cálcio supriu, em média, apenas 50,8% (variando de 22,5 a 167,2%) da RDA de cálcio nestes pacientes e 74,6% (variando de 17,1 a 215,6%) nos controles. O consumo de cálcio permaneceu baixo entre os membros do grupo DGH e comparativamente aos controles, mesmo quando foi calculada a RDA para a idade altura (tabela 2). Apenas 25% dos doentes e 42% dos controles tinham ingestão de cálcio adequada, isto é, maior ou igual à EAR.

Quanto aos hábitos de exposição solar, ambos os grupos não diferiram quanto às horas por semana de exposição ao sol ($p=0,527$) e 97,2% dos indivíduos com DGH e 86,7% dos controles tiveram exposição ao sol considerada suficiente. Os dois grupos tiveram escore de proteção solar insuficiente, mas os pacientes com DGH se protegiam mais ($p=0,001$) (tabela 2).

A maioria dos participantes do estudo foi considerada sedentária pelo escore médio obtido pelo questionário de atividade física (< 3): 97% dos pacientes com DGH e 83,3% dos controles eram sedentários. O grupo com DGH teve um escore significativamente mais baixo do que o grupo controle ($p=0,004$). Ambos os grupos não diferiram em relação ao tempo gasto por dia em atividades sedentárias ($p=0,700$) e permaneciam aproximadamente três horas por dia na TV, computador e videogames (tabela 2).

Tabela 2: Comparação dos parâmetros referentes à ingestão alimentar e aos hábitos de exposição solar e de atividade física entre indivíduos com DGH em tratamento e o grupo controle, pareado por idade e gênero.

Parâmetros	DGH n=36	Controle n=45	Valor p
Calorias (Kcal/dia)*	1619,11 (640,10)	2153,57 (1486,34)	0,004 (2)
Ingestão de cálcio (mg/dia)*	657,06 (418,76)	885,25 (428,28)	0,016 (2)
% RDA de cálcio para idade*	50,88 (44,7)	74,68 (37,30)	0,016 (2)
% RDA de cálcio para idade altura*	54,98 (31,40)	74,69 (34,20)	0,022 (2)
Exposição ao sol (horas/semana)*	13,00 (13,00)	13,00 (12,00)	0,527 (2)
Escore de proteção solar [#]	2,99 ± 0,69	2,49 ± 0,60	0,001 (1)
Escore de atividade física [#]	2,03 ± 0,45	2,45 ± 0,70	0,004 (1)
Atividades sedentárias (horas/dia)*	3,25 (3,00)	3,00 (3,00)	0,700 (2)

DGH: Deficiência de hormônio do crescimento; RDA: ingestão dietética recomendada²¹.

[#] Valores expressos em média e desvio-padrão; (1) Teste T; * Valores expressos em mediana e intervalo interquartil; (2) Teste de Mann Whitney.

Não houve diferença na incidência relatada de fratura entre os dois grupos: DGH (16,7%) e controle (20%) ($p=0,701$). Não houve relato de fratura secundária a trauma de baixo impacto.

Em relação aos exames laboratoriais, não houve diferença entre as concentrações de cálcio total, fósforo, magnésio, fosfatase alcalina, ureia, creatinina, T4 livre, 25-OH vitamina D e PTH entre os dois grupos. As concentrações de IGF-1 foram significativamente mais baixas nos doentes ($p=0,007$) (tabela 3).

Tabela 3: Comparação dos parâmetros bioquímicos entre os indivíduos com DGH em tratamento e o grupo controle, pareado por idade e gênero.

Parâmetros	DGH n=36	Controle n=45	Valor p
Cálcio total (mg/dL) [#]	9,95 ± 0,36	9,83 ± 0,34	0,146 (1)
Fósforo (mg/dL) [#]	5,31 ± 0,55	5,17 ± 0,80	0,369 (1)
Magnésio (mg/dL) [#]	2,00 ± 0,17	2,00 ± 0,16	0,928 (1)
Fosfatase alcalina (U/L) [#]	211,78 ± 60,48	202,53 ± 87,40	0,591 (1)
Ureia (mg/dL) [#]	23,69 ± 7,78	25,07 ± 5,2	0,346 (1)
Creatinina (mg/dL) [*]	0,56 (0,17)	0,55 (0,27)	0,280 (2)
IGF-1 (ng/mL) [*]	233,90 (269)	336,00 (227)	0,007 (2)
T4 livre (ng/dL) [#]	1,15 ± 0,26	1,20 ± 0,18	0,266 (1)
25-OH vitamina D (ng/mL) [*]	23,00 (11,00)	26,00 (10,0)	0,458 (2)
PTH (pg/mL) [*]	51,30 (23,20)	42,90 (29,20)	0,425 (2)

DGH: deficiência de hormônio do crescimento; IGF-1: fator de crescimento insulina-símile tipo 1; PTH: paratormônio.

Valores expressos em média e desvio-padrão; (1) Teste T;

* Valores expressos em mediana e intervalo interquartil; (2) Teste de Mann Whitney.

A mediana da 25-OH vitamina D foi de 23,0 ng/mL (variou de 13 a 52) no grupo com DGH, sendo que oito pacientes (22,2%) eram deficientes, dezoito (50%) apresentavam concentrações insuficientes e apenas 10 (27,8%) eram suficientes em relação à vitamina. A proporção de indivíduos deficientes, insuficientes e suficientes no grupo controle (17,8%, 46,7% e 35,6%, respectivamente), foi similar ao grupo com DGH ($p=0,768$).

Encontrou-se correlação positiva significativa entre horas por semana de exposição solar e as concentrações séricas de 25-OH vitamina D, entre todos os participantes do estudo ($r=0,279$; $p=0,012$). Também foi encontrada correlação positiva significativa entre o escore de atividade física e as horas por semana de exposição ao sol

($r=0,255$; $p=0,026$) e as concentrações séricas de 25-OH vitamina D ($r=0,258$; $p=0,025$) nessa mesma amostra.

Não houve associação entre as concentrações de 25-OH vitamina D e as concentrações de IGF-1 entre os pacientes com DGH ($r=0,056$; $p=0,747$).

Em relação aos achados da DXA, os pacientes com DGH apresentaram médias de CMO CTsc e CMO CTsc Z idade significativamente menores em relação aos controles ($p=0,022$ e $<0,0001$, respectivamente). Já a DMOv CL e o CMO CTsc Z altura não foram diferentes entre os dois grupos (tabela 4 e figura 1). O grupo controle apresentou médias de CMO CTsc para a idade e para a altura significativamente menores do que as respectivas médias da população de referência disponibilizada pelo software da DXA ($-0,35 \pm 0,94$; $p=0,026$ e $-1,02 \pm 0,87$; $<0,0001$, respectivamente).

A composição corporal dos dois grupos não diferiu, com massa magra corporal (MMCT) e porcentagem de gordura corporal total (% GCT) semelhantes (tabela 4).

Tabela 4: Comparação dos parâmetros medidos pela DXA entre os grupos DGH e controle, pareados por idade e gênero.

Parâmetros	DGH (n=36)	Controle (n=45)	Valor p
DMOv CL(g/cm^3)*	0,1 (0,02)	0,1 (0,03)	0,348 (2)
CMO CTsc (g)*	754,03 (491,87)	912,07 (662,96)	0,022 (2)
CMO CTsc Z idade [#]	$-1,62 \pm 1,08$ (n=30)	$-0,35 \pm 0,94$ (n=38)	$<0,0001$ (1)
CMO CTsc Z altura [#]	$-0,63 \pm 1,04$ (n=26)	$-1,02 \pm 0,87$ (n=40)	0,109 (1)
MMCT (g) [#]	$24.335,7 \pm 10.429,3$	$27.917,1 \pm 10.644,7$	0,136 (1)
% GCT (%)*	26,8 (16,9)	26,4 (11,8)	0,206 (2)

DXA: densitometria óssea; DGH: deficiência de hormônio do crescimento; DMOv CL: densidade mineral óssea volumétrica estimada da coluna lombar; CMO CTsc: conteúdo mineral ósseo de corpo total sem a cabeça; MMCT: massa magra corporal total; % GCT: porcentagem de gordura corporal total.

Valores expressos em média e desvio-padrão; (1) Teste T;

* Valores expressos em mediana e intervalo interquartil; (2) Teste de Mann Whitney.

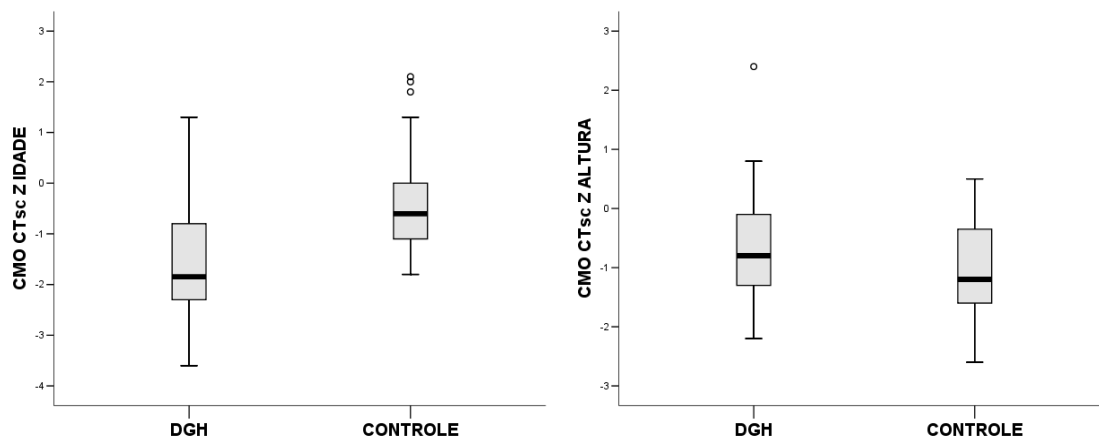


Figura 1: CMO CTsc Z idade (à esquerda) e CMO CTsc Z altura (à direita), avaliados pela DXA, dos grupos DGH e controle, pareados por idade e gênero.

Os valores de AD-SoS e BTT medidos pela USQ de falanges foram significativamente menores no grupo DGH em relação ao grupo controle ($p=0,001$ e $0,029$, respectivamente). O mesmo ocorreu quando se comparou os escores-Z da AD-SoS e do BTT para a idade, entre os dois grupos ($p<0,0001$). Em contrapartida, quando foi realizado ajuste para a altura, ambas as variáveis não apresentaram diferença entre os grupos (tabela 5 e figuras 2 e 3). O grupo controle apresentou médias de AD-SoS Z idade, AD-SoS Z altura, BTT Z idade e BTT Z altura significativamente maiores do que as respectivas médias da população de referência disponibilizada pelo software da USQ de falanges ($0,88 \pm 1,23$; $0,84 \pm 1,13$; $0,40 \pm 0,96$; $0,39 \pm 0,97$, respectivamente; $p<0,05$ para todos os parâmetros).

Tabela 5: Comparação dos parâmetros medidos pela USQ de falanges entre os grupos DGH e controle, pareados por idade e gênero.

Parâmetros	DGH n=36	Controle n=45	Valor p
AD-SoS (m/s)*	1925,00 (92,00)	1982,00 (150,00)	0,001 (2)
AD-SoS Z idade [#]	$-0,76 \pm 1,40$	$0,88 \pm 1,23$	$<0,0001$ (1)
AD-SoS Z altura*	0,00 (1,00)	1,00 (2,00)	0,112 (2)
BTT (μ s)*	0,94 (0,33)	1,14 (0,57)	0,029 (2)
BTT Z idade [#]	$-0,84 \pm 1,44$	$0,40 \pm 0,96$	$<0,0001$ (1)
BTT Z altura [#]	$0,41 \pm 1,05$	$0,39 \pm 0,97$	0,895 (1)

USQ: ultrassonografia óssea quantitativa; DGH: deficiência de hormônio do crescimento; AD-SoS: velocidade do som amplitude dependente; BTT: tempo de transmissão óssea.

[#] Valores expressos em média e desvio-padrão; (1) Teste T; * Valores expressos em mediana e intervalo interquartil; (2) Teste de Mann Whitney.

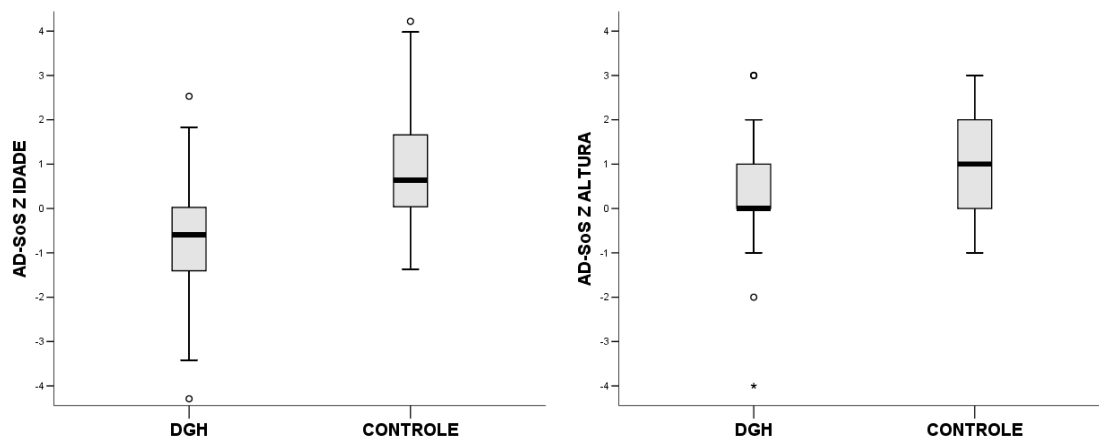


Figura 2: AD-SoS Z idade (à esquerda) e AD-SoS Z altura (à direita), avaliados pela USQ de falanges, dos grupos DGH e controle, pareados por idade e gênero.

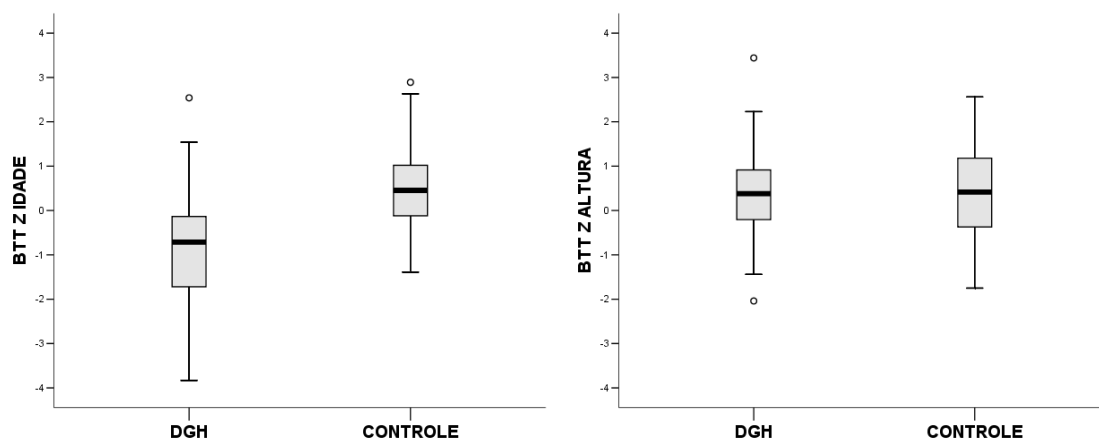


Figura 3: BTT Z idade (à esquerda) e BTT Z altura (à direita), avaliados pela USQ de falanges, dos grupos DGH e controle, pareados por idade e gênero.

Correlação entre parâmetros clínico-laboratoriais e as variáveis densitométricas e ultrassonográficas nos pacientes com DGH

Encontrou-se uma correlação negativa significativa entre idade de início do GH e o CMO CTsc Z idade medido pela DXA ($r = -0,577$; $p = 0,001$) e o AD-SoS Z idade ($r = -0,448$; $p = 0,007$) e o BTT Z idade ($r = -0,614$; $p < 0,0001$) medidos pela USQ de falanges. Houve uma correlação positiva significativa entre o tempo de tratamento com GH e o CMO CTsc Z idade medido pela DXA ($r = 0,531$; $p = 0,003$) e o BTT Z idade medido pela USQ de falanges ($r = 0,411$; $p = 0,014$). Não foi encontrada associação entre a idade de início do GH e o tempo de tratamento com as variáveis densitométricas e ultrassonográficas ajustadas para a altura (CMO CTsc Z altura, AD-SoS Z altura e BTT

Z altura). Não houve associação entre o número de deficiências hormonais e qualquer variável medida pela DXA ou pela USQ de falanges.

Uma correlação positiva significativa foi encontrada entre ingestão de cálcio (porcentagem da RDA) e CMO CTsc Z idade ($r= 0,375$; $p=0,04$), AD-SoS Z idade ($r=0,340$; $p=0,046$) e BTT Z idade ($r=0,462$; $p=0,005$) nos pacientes com DGH. Não houve associação entre a ingestão de cálcio e as medidas densitométricas e ultrassonográficas ajustadas para a altura.

Não houve associação entre hábitos de exposição ao sol ou prática de atividade física e as variáveis densitométricas e ultrassonográficas. O mesmo ocorreu entre as concentrações séricas de 25-OH vitamina D e as medidas ósseas. As concentrações de vitamina D não foram diferentes entre pacientes com medidas menores ou iguais a -2 DP, entre -2 e -1 DP e maiores que -1 DP na densitometria e na ultrassonografia.

Desempenho da USQ de falanges em relação à DXA

Para avaliar o desempenho da USQ de falanges em relação à DXA, testes de correlação, concordância e a curva ROC foram realizados, inicialmente, nos grupos DGH e controle separadamente e, em seguida, incluindo todos os participantes do estudo. Como todas essas análises apresentaram o mesmo padrão, optou-se por apresentar essa última, com a maior amostra.

Observou-se uma forte correlação positiva entre os resultados das variáveis ultrassonográficas AD-SoS e BTT ($r=0,905$; $p<0,0001$).

Observou-se, também, uma forte associação positiva entre os valores absolutos de CMO CTsc medidos pela DXA e os valores de AD-SoS e BTT medidos pela USQ de falanges ($r=0,784$; $p<0,0001$ e $r=0,898$; $p<0,0001$, respectivamente) (figura 4).

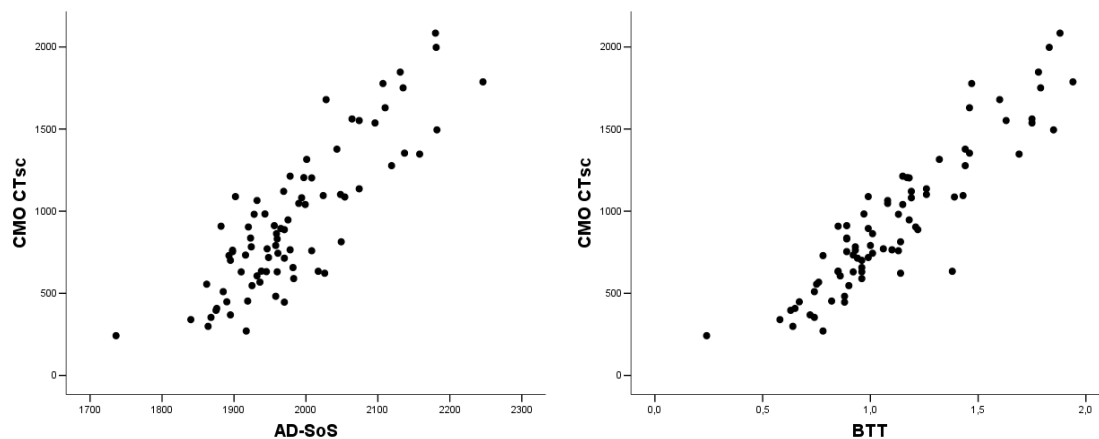


Figura 4: Correlação entre os valores absolutos de CMO CTsc medidos pela DXA e de AD-SoS e BTT medidos pela USQ de falanges, em todos os participantes do estudo.

Correlação positiva significativa também foi encontrada em relação a essas mesmas variáveis padronizadas para idade e altura, embora com menor intensidade:

- $r=0,633$; $p<0,0001$, entre CMO CTsc Z idade e AD-SoS Z idade;
- $r=0,786$; $p<0,0001$, entre CMO CTsc Z idade e BTT Z idade;
- $r=0,366$; $p=0,002$, entre CMO CTsc Z altura e AD-SoS Z altura;
- $r=0,597$; $p<0,0001$, entre CMO CTsc Z altura e BTT Z altura.

Apesar da elevada correlação entre as variáveis da DXA e da USQ de falanges, não foi encontrada concordância entre os dois métodos no diagnóstico de baixo status mineral ósseo. Do total de oito indivíduos com CMO CT Z altura ≤ -2 DP pela DXA, nenhum foi identificado pela USQ de falanges (tinham AD-SoS e BTT maiores que -2 DP) (Kappa: $-0,028$; $p=0,708$).

Para testar se a não concordância ocorreu por características intrínsecas de cada método, ou por diferenças nas populações de referência utilizadas por cada um deles, optou-se por ajustar as variáveis estudadas a uma única população de referência. Para isso, um modelo de regressão linear simples foi ajustado e estimou-se a variável densitométrica (CMO CTsc) a partir da variável ultrassonográfica (AD-SoS ou BTT). Em seguida, um novo escore-Z foi calculado para essa medida estimada, utilizando-se a

população de referência norte-americana, disponibilizada no software da DXA. Dessa forma, um novo teste de concordância foi realizado entre os dois métodos com todos os escores-Z obtidos da mesma população de referência.

Após esse ajuste, houve uma concordância fraca, mas significativa, entre DXA e USQ de falanges no diagnóstico de baixo status mineral ósseo para altura, utilizando a medida ultrassonográfica AD-SoS (Kappa: 0,289; $p=0,005$) (tabela 6).

Tabela 6: Concordância entre DXA (CMO CTsc) e USQ de falanges (AD-SoS) na identificação de indivíduos com baixo status mineral ósseo (escore $Z \leq -2$ DP).

VARIÁVEIS		AD-SoS Z ALTURA		
		≤ -2 DP	> -2 DP	TOTAL
CMO CTsc Z ALTURA	≤ -2 DP	6	2	8
	> -2 DP	15	43	58
	TOTAL	21	45	66

DXA: densitometria óssea; CMO CTsc: conteúdo mineral ósseo de corpo total sem a cabeça; USQ: ultrassonografia óssea quantitativa; AD-SoS: velocidade do som amplitude dependente.

Utilizando o BTT, a concordância foi moderada e, dos oito indivíduos identificados pela DXA, sete também o foram pela USQ de falanges. Além disso, outros doze foram diagnosticados apenas pela USQ (Kappa: 0,419; $p<0,0001$) (tabela 7).

Tabela 7: Concordância entre DXA (CMO CTsc) e USQ de falanges (BTT) na identificação de indivíduos com baixo status mineral ósseo (escore $Z \leq -2$ DP).

VARIÁVEIS		BTT Z ALTURA		
		≤ -2 DP	> -2 DP	TOTAL
CMO CTsc Z ALTURA	≤ -2 DP	7	1	8
	> -2 DP	12	46	58
	TOTAL	19	47	66

DXA: densitometria óssea; CMO CTsc: conteúdo mineral ósseo de corpo total sem a cabeça; USQ: ultrassonografia óssea quantitativa; BTT: tempo de transmissão óssea.

A análise das curvas ROC, realizada após ajuste das populações de referência, mostrou que os parâmetros ultrassonográficos AD-SoS e BTT tiveram um elevado poder para discriminar indivíduos com baixo status mineral ósseo daqueles com status mineral ósseo normal pela DXA (tabela 8 e figura 5).

Tabela 8: Área sob a curva (ASC) e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) dos parâmetros ultrassonográficos AD-SoS e BTT.

Parâmetros	ASC	IC 95%
AD-SoS Z altura	0,845	0,727-0,963
BTT Z altura	0,916	0,833-0,999

AD-SoS: velocidade do som amplitude dependente; BTT: tempo de transmissão óssea.

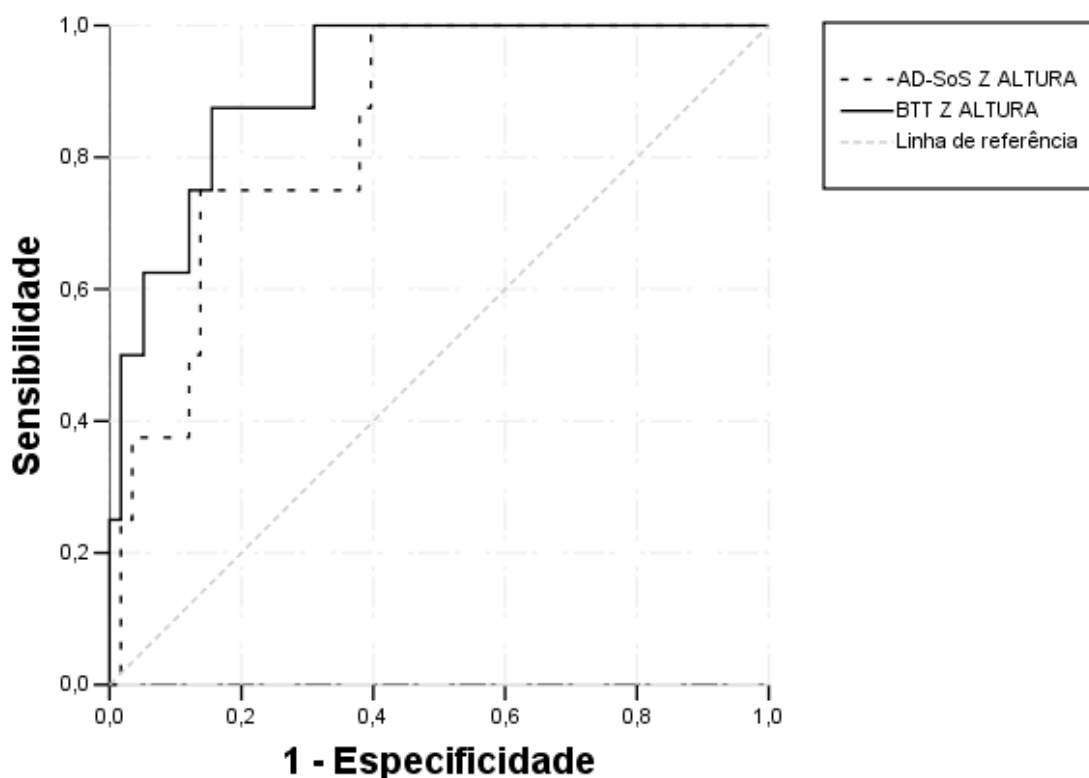


Figura 5: Curvas ROC avaliando o desempenho diagnóstico dos parâmetros ultrassonográficos AD-SoS e BTT em relação à DXA, considerada padrão-ouro.

Uma AD-SoS Z altura ≤ -2 DP identificou os casos diagnosticados pela DXA com sensibilidade de 75% e especificidade de 74,1%. Utilizando esse mesmo ponto de corte, o BTT apresentou sensibilidade de 87,5% e especificidade de 79,3%. Adotando-se o ponto de corte de -1,3 DP para ambos os parâmetros ultrassonográficos, 100% dos casos foram identificados, com uma especificidade de 60,3% para a AD-SoS e de 69% para o BTT.

Discussão

Nossos resultados demonstraram que crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH (mediana do tempo de uso de 3,7 anos), tinham baixo CMO CTsc em relação a indivíduos saudáveis da mesma idade, possivelmente devido à baixa estatura. Quando foi feito ajuste para o tamanho dos pacientes, calculando-se o escore-Z do CMO CTsc para a altura, a massa óssea medida pela DXA não apresentou diferença. As variáveis ultrassonográficas (AD-SoS e BTT) mostraram o mesmo padrão, com semelhança entre os grupos após ajuste feito para a altura.

O estudo do CMO CTsc para altura não fornece rigorosamente a densidade volumétrica do osso, mas é a avaliação densitométrica disponível e recomendada em crianças e adolescentes com distúrbios do crescimento²⁹. No presente estudo, não foi encontrada diferença na DMOv estimada da coluna lombar entre o grupo DGH e os controles, sugerindo que a densidade do corpo total também seja normal. Dois estudos recentes também detectaram que o CMO de corpo total das crianças com DGH foi comparável ao dos controles após correção para a altura, mas as crianças não tinham iniciado o tratamento com GH^{9, 10}. Um deles encontrou que o CMO para altura diminuiu durante os dois primeiros anos de tratamento com o GH, provavelmente pelo aumento da taxa de remodelação¹⁰. Com esses achados podemos pressupor que a doença não afeta o CMO para a altura, que no início do tratamento o GH pode inclusive diminuí-lo, com recuperação em seguida. Entretanto, Ekbot et al.⁷, encontraram resultado discordante, com baixo CMO de corpo total (média do escore-Z abaixo de -2 DP) nas crianças com DGH antes do início do tratamento, que persistiu mesmo após ajuste para idade altura, idade óssea, área óssea e massa magra. Esse estudo avaliou um grupo de crianças indianas com DGH e deficiências nutricionais importantes, como

hipovitaminose D, hipocalcemia e hiperparatireoidismo secundário, o que pode ter sido a causa da diferença encontrada.

As variáveis medidas pela USQ de falanges sofrem pouca influência da largura do osso³⁴. Entretanto, em concordância com nossos achados, alguns autores já relataram que as variáveis ultrassonográficas, assim como ocorre com as medidas da DXA, se correlacionam com a estatura e que a interpretação das mesmas também deve ser feita com cautela, levando-se em consideração essa correlação^{8, 35}. Isso provavelmente ocorre porque as variáveis ultrassonográficas não refletem puramente a densidade (que se mantém relativamente constante até a puberdade)³⁶, mas também a geometria, microarquitetura e elasticidade, outros indicadores de resistência óssea^{12, 35, 37}. A geometria óssea, por exemplo, sofre influência da altura, já que o esqueleto vai se adaptando às forças biomecânicas aplicadas sobre ele, com o crescimento³⁵.

Até o momento, apenas dois estudos avaliaram a saúde óssea de crianças com DGH utilizando a USQ^{6, 8}. Ambos encontraram AD-SoS e BTT, ajustados para altura e idade óssea, significativamente reduzidos em relação aos controles saudáveis. Essa discordância com nossos achados pode ter ocorrido devido a diferenças na população estudada, pois ambos os estudos incluíram na análise crianças que nunca fizeram uso do GH, além de crianças já em tratamento. Com nossos dados, poderíamos especular que a qualidade e estrutura ósseas avaliadas pela USQ de falanges estão deterioradas pela doença e melhoram com o tratamento, justificando o achado de normalidade em pacientes com mediana de uso do GH de 3,7 anos.

Foi possível perceber que nosso grupo controle, constituído por crianças e adolescentes saudáveis, apresentou CMO CTsc para idade e para altura reduzidos em relação à população de referência disponibilizada pelo software da DXA. Alguns indivíduos, inclusive, apresentaram escore-Z menor que -2 DP. Isso pode ter acontecido pelo fato da curva de referência utilizada ter sido construída com dados obtidos de crianças norte-americanas, com aspectos genéticos e ambientais que podem diferir da nossa população³⁰. Em contrapartida, esse mesmo grupo controle apresentou melhor status mineral ósseo medido pela USQ de falanges quando comparado com a população de referência disponibilizada pelo software desse aparelho, construída com dados de crianças italianas³¹. Um estudo brasileiro, que avaliou grande número de crianças e adolescentes saudáveis, também encontrou medidas ultrassonográficas melhores em relação à essa população³⁸. Sabemos que a aquisição de massa óssea está sob forte controle

genético, além de ser influenciada por fatores ambientais modificáveis^{2, 3, 39}. Isso demonstra a importância de utilizarmos curvas de referência apropriadas, obtidas com crianças e adolescentes da mesma população de origem, com raça e hábitos de vida semelhantes. A comparação do nosso grupo de pacientes com essas referências internacionais poderia ter nos levado a interpretações equivocadas, com classificação de indivíduos com massa óssea adequada como doentes ou vice e versa. Para evitar erros diagnósticos, curvas de referência com grande número de crianças e adolescentes saudáveis brasileiros devem ser construídas.

Em concordância com nossos achados de normalidade nos exames de densitometria e ultrassonografia ósseas, não encontramos maior incidência de fraturas nas crianças com DGH, em tratamento, em relação aos controles. A incidência obtida foi, inclusive, semelhante à relatada para a faixa etária pediátrica (cerca de 180 fraturas para cada 10.000 crianças por ano)⁴⁰. Muitos estudos têm relatado uma incidência aumentada de fraturas em adultos com DGH, sendo que a maioria dos participantes desses estudos apresentam múltiplas deficiências hormonais pituitárias^{41, 42}. Nossa amostra também era composta por pacientes com hipopituitarismo, mas todos estavam em reposição hormonal adequada. Além disso, estudos avaliando a incidência de fraturas em adultos não podem ser extrapolados para as crianças e, na faixa etária pediátrica, os relatos são escassos e com número limitado de pacientes⁴³. Apesar dos nossos pacientes com DGH não mostrarem fragilidade óssea no presente, a aquisição de um PMO adequado não está garantida e ainda existe o risco de fragilidade óssea futura, o que deve ser uma preocupação constante e real.

A menor idade ao início do GH e a maior duração do tratamento foram associadas a melhor status mineral ósseo para idade, em concordância com o relato de Mussa et al.⁶, mas é provável que esses achados estejam relacionados ao ganho em altura. Não conseguimos demonstrar correlação entre essas variáveis e as medidas ósseas ajustadas para a altura, mas a grande variabilidade da população doente e o pequeno número de indivíduos prejudicou essa análise, inviabilizando conclusões definitivas.

No presente estudo a ingestão de cálcio observada foi inadequada para a maioria dos participantes, mas foi pior no grupo com DGH. Ingestão deficiente de cálcio tem sido citada em diversos trabalhos em crianças e adolescentes saudáveis⁴⁴⁻⁴⁶. Um estudo brasileiro em crianças entre 2 e 6 anos mostrou ingestão inadequada em até 45% das

crianças com mais de 4 anos⁴⁵. Outro estudo feito em São Paulo com adolescentes e adultos demonstrou ingestão de cálcio inadequada em 70% dos participantes e a menor ingestão foi associada à menor renda familiar e nível educacional⁴⁶. Os pacientes com DGH tinham classificação socioeconômica semelhante ao grupo controle e a ingestão permaneceu deficiente mesmo após ajuste para a idade altura. Uma possível explicação para a menor ingestão de cálcio seria o fato da DGH levar a uma diminuição do apetite⁴⁷, o que justificaria também a menor ingestão de calorias nesse grupo. Teoricamente, entretanto, o tratamento com GH seria capaz de reverter o problema⁴⁷, o que não ocorreu com a dose de GH, aparentemente adequada, utilizada pelos pacientes.

Observou-se, também, elevada prevalência de hipovitaminose D em ambos os grupos, mas sem diferença significativa entre eles. Entretanto, a prevalência encontrada não diferiu da relatada em estudos com adolescentes brasileiros^{46, 48}. No Brasil, não existe o hábito de ingestão de alimentos ricos em vitamina D, como salmão, sardinha e cogumelos e a fortificação de produtos alimentícios não é obrigatória. Com isso, a principal fonte da vitamina é a síntese na pele, mediada pela exposição à luz do sol⁴⁶. No presente estudo encontramos que, de maneira geral, os indivíduos que tinham o hábito de praticar mais atividade física se expunham mais ao sol e possuíam concentrações séricas mais elevadas de vitamina D. O hábito de exposição solar foi considerado suficiente entre os participantes da pesquisa, com média muito superior aos 15-20 minutos diários recomendados⁴⁹ e o escore de proteção solar foi baixo, o que foi contraditório com o achado de alta prevalência de hipovitaminose D nos dois grupos, avaliada pelas concentrações séricas de 25-OH vitamina D. Dentre as possíveis explicações, as mais prováveis seriam a inadequação do método para avaliação da exposição solar ou dos valores de referência para definição de hipovitaminose D. Na realidade, existe muita controvérsia em relação ao ponto de corte que define a hipovitaminose. Segundo o IOM, um nível sérico de vitamina D de 20 ng/mL supre as necessidades de 97,5% da população²¹. Seguindo essa referência, 77,8% das crianças com DGH e 82,2% dos controles teriam concentrações satisfatórias da vitamina (≥ 20 ng/mL) e não 27,8 e 35,6%, respectivamente, seguindo o ponto de corte para suficiência da *Endocrine Society* (≥ 30 ng/mL)²⁷.

Foi observado que as crianças e os adolescentes com DGH que consumiam maior quantidade de cálcio tiveram melhor status mineral ósseo para idade tanto pela DXA quanto pela USQ de falanges, embora não tenha sido encontrada associação entre

as concentrações séricas de 25-OH vitamina D e as medidas ósseas. Nem sempre se consegue estabelecer uma relação entre parâmetros modificáveis no curto prazo com parâmetros ósseos, mais estáveis e as concentrações de 25-OH vitamina D medidas podem não refletir o status da vitamina ao longo do tempo. Como a grande maioria dos pacientes tinha ingestão de cálcio bem abaixo da recomendada, mesmo aqueles com níveis considerados adequados de vitamina D poderiam ter prejuízo na aquisição de massa óssea. O cálcio é um importante componente estrutural do osso, necessário para se adquirir uma massa óssea adequada. Já a vitamina D é necessária para uma absorção adequada de cálcio, que atenda às necessidades da criança em crescimento⁵⁰. Em crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH, a velocidade de crescimento é acelerada e a elevada aquisição de massa óssea demanda uma elevada taxa de deposição mineral. Com isso, as necessidades de cálcio e vitamina D estão aumentadas, fazendo com que uma nutrição adequada seja muito importante. Em concordância com nossos achados, Ekbote et al.⁵¹, em estudo piloto experimental, randomizado e controlado, relataram que a suplementação de cálcio e vitamina D, em associação à terapia com GH, em crianças com DGH e deficiências nutricionais, teve o potencial de aumentar o ganho de massa óssea ajustado para a altura, sendo que esse efeito foi melhorado com a adição da suplementação de zinco. Um estudo anterior já havia demonstrado uma melhora similar no ganho de massa óssea com a suplementação de cálcio durante a terapia com o GH⁵².

Outro ponto relevante referente à vitamina D é a sua relação com o IGF-1. Uma correlação positiva tem sido demonstrada em indivíduos saudáveis⁵³ e o tratamento com colecalciferol aumentou significativamente as concentrações circulantes de IGF-1 em crianças e adultos com deficiência da vitamina^{54, 55}. Parece haver uma associação causal entre vitamina D e IGF-1, embora os mecanismos não estejam bem estabelecidos. A vitamina D pode atuar na hipófise, aumentando a síntese do GH, ou mais provavelmente no fígado e localmente nos tecidos periféricos, aumentando a síntese de IGF-1⁵⁶. Ameri et al.⁵⁵ estudaram adultos com DGH em terapia de reposição com GH e relataram que nos pacientes com níveis de vitamina D mais elevados, era necessária uma dose menor de GH para manter as concentrações de IGF-1 dentro da normalidade. No presente estudo não foi possível calcular o desvio-padrão do IGF-1 para a idade, pela ausência de valores de referência disponíveis, o que pode ter sido a razão por não ter sido encontrada uma correlação entre as concentrações séricas de vitamina D e de IGF-1.

Entretanto, isso nos chama a atenção para o fato de que concentrações de vitamina D insuficientes em crianças com DGH podem ser prejudiciais não só para a aquisição de massa óssea adequada, mas também para a resposta ao tratamento com GH em termos estaturais. Mais estudos são necessários para elucidar essa questão, inclusive para tentar estabelecer o nível ideal da vitamina nesses pacientes.

Em relação à atividade física, a população estudada se mostrou sedentária. A atividade física é outro fator importante para aquisição de massa óssea⁵⁷ e, de forma semelhante aos nossos achados, tem sido relatada como baixa no Brasil e no mundo, pelo maior tempo gasto em atividades sedentárias em ambientes fechados²⁵. Entretanto, o grupo com DGH apresentou-se ainda menos ativo. Estudos em adultos com DGH já demonstraram que a reposição com GH, além de melhorar a composição corporal aumentando a massa muscular, melhora a capacidade aeróbica para o exercício⁵⁸. Nossos pacientes estavam em uso de dose considerada adequada de GH, com níveis de IGF-1 dentro dos valores de referência e, possivelmente, adequados para a idade óssea e a composição corporal era normal. Apesar disso, uma menor tolerância ao exercício, com menor escore de atividade física, poderia ocorrer. Outra questão é que a baixa estatura na DGH pode fazer com que as crianças e os adolescentes, em particular, se sintam menos favorecidos e menos aptos à prática de esportes em relação aos indivíduos saudáveis da mesma idade.

Constatamos, portanto, que as crianças e os adolescentes com DGH demonstraram vários comportamentos de risco para a saúde óssea, embora não tenha sido possível identificar alterações à imagem que sugerissem uma baixa densidade mineral óssea.

Encontramos uma forte correlação entre as variáveis medidas pela DXA e pela USQ de falanges. Isso demonstra que os dois métodos avaliam características ósseas que estão fortemente relacionadas, além de sugerir que a USQ de falanges seja um método confiável. Correlação positiva significativa já foi relatada entre AD-SoS medida pela USQ de falanges e DMO de antebraço medida pela DXA ($r=0,66$; $p<0,000001$), em crianças com doenças genéticas¹³. Recentemente, Gonçalves et al.⁵⁹ também encontraram uma correlação significativa (que variou de 0,59-0,72; $p<0,001$), entre os parâmetros da USQ de falanges e da DXA de corpo total e coluna lombar em pacientes com hiperplasia adrenal congênita. Um fato que nos chamou a atenção durante a análise

inicial dos dados foi a completa ausência de concordância entre os dois métodos no diagnóstico de baixo status mineral ósseo, apesar da elevada correlação entre eles. Outro dado interessante observado foi uma melhor correlação entre as variáveis absolutas, quando comparada com a correlação entre as variáveis padronizadas. Dessa maneira, uma possível explicação para a não concordância inicialmente encontrada foram as diferentes populações de referência utilizadas para o cálculo dos escores-Z em cada método, hipótese essa já levantada por outros autores³³. De fato, até mesmo a concordância entre dois aparelhos iguais de DXA pode ser prejudicada se cada um deles utilizar uma referência distinta⁶⁰. Diante dessa hipótese, o ajuste das variáveis estudadas para a mesma população de referência mostrou-se oportuno: após o ajuste, houve uma concordância significativa entre as duas técnicas. Percebeu-se ainda, que a concordância foi melhor com o uso do BTT do que com o uso da AD-SoS, provavelmente porque a primeira variável, diferentemente da segunda, não sofre interferências do tecido mole, sendo mais fidedigna na avaliação óssea¹². As medidas AD-SoS e BTT foram capazes de identificar quase todos os casos diagnosticados pela DXA, mas também apontaram vários outros casos não diagnosticados pela mesma. Isso pode ter ocorrido por características metodológicas da USQ de falanges, como, por exemplo, o fato da mesma prover apenas medidas indiretas do status mineral ósseo (a velocidade do som e o tempo de transmissão óssea e não propriamente a massa óssea, como a DXA), ou, ainda, por realizar a avaliação em um sítio ósseo diferente da densitometria, o que poderia, por si só, ser causa de discordância, mesmo intra-método^{61, 62}. Uma outra explicação, que, aliás, já foi utilizada por outros autores^{63, 64}, seria a possibilidade da USQ de falanges prover informação óssea distinta, ou adicional em relação à DXA. Dessa forma, um paciente já poderia ser identificado pela USQ de falanges, mesmo apresentando massa óssea normal pela DXA. Somando-se às análises de correlação e concordância, a curva ROC confirmou o ótimo desempenho da USQ de falanges na discriminação de crianças e adolescentes com baixa massa óssea pela DXA. Apesar de todas essas considerações, na prática clínica, como as populações de referência disponíveis para cada método são diferentes, não haverá concordância entre eles e os pontos de corte aqui estabelecidos pela curva ROC não serão aplicáveis. Entretanto, a uniformização das populações de referência foi extremamente válida no presente estudo, já que apenas dessa maneira foi possível uma avaliação efetiva e confiável do real desempenho da USQ de falanges em relação à DXA, método mais conhecido e utilizado. O novo desafio a partir de agora, será adotarmos curvas de referência mais apropriadas para ambos os métodos.

As principais limitações desse estudo foram a pequena amostra de indivíduos doentes e a impossibilidade de incluir nela apenas pacientes com DGH isolada, embora esses fatos sejam justificados pela raridade da doença e pelo fato de que, quando a DGH é grave, está frequentemente associada a outras deficiências hormonais hipofisárias. Outras limitações foram: a variabilidade da população doente em relação ao tempo de tratamento com GH e a impossibilidade de estudar a saúde óssea dos pacientes antes do início do tratamento, pela natureza transversal do estudo. Dentre os pontos fortes destacamos a inclusão de um grupo controle constituído por indivíduos saudáveis pareados por idade, gênero, estágio puberal, raça e nível sócio-econômico, o que possibilitou um melhor estudo comparativo. Além disso, a saúde óssea foi estudada por dois métodos, possibilitando o estudo tanto quantitativo quanto qualitativo do osso e as variáveis obtidas foram ajustadas para a altura e para uma mesma população de referência, o que nos permitiu a análise correta dos dados.

Conclusões

Esse estudo sugere que crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH, têm quantidade e qualidade ósseas para altura, avaliadas pela DXA e pela USQ de falanges, comparáveis aos seus pares saudáveis. Entretanto, a população estudada apresentou vários comportamentos considerados de risco para a saúde óssea. A manutenção de baixa ingestão de cálcio, níveis insuficientes de vitamina D, além do sedentarismo por longos períodos durante a infância e adolescência, fases críticas para a saúde esquelética, podem influenciar negativamente o crescimento, o ganho de massa óssea e a obtenção de um PMO adequado, já incertos nesses pacientes.

A USQ de falanges se mostrou uma técnica confiável em relação à DXA, mas que também demanda cuidados na interpretação dos achados em crianças e adolescentes com baixa estatura. Por ser uma técnica não invasiva, se mostrou promissora num cenário caracterizado por demanda crescente de avaliação dos efeitos de patologias crônicas e seus tratamentos sobre a saúde óssea da criança e do adolescente.

Mais estudos são necessários para avaliação de medidas preventivas e terapêuticas que poderiam otimizar o status mineral ósseo das crianças e adolescentes com DGH.

Referências

1. Baxter-Jones AD, Faulkner RA, Forwood MR, Mirwald RL, Bailey DA. Bone mineral accrual from 8 to 30 years of age: an estimation of peak bone mass. *J Bone Miner Res.* 2011;26(8):1729-39.
2. Alam I, Padgett LR, Ichikawa S, Alkhouli M, Koller DL, Lai D, et al. SIBLING family genes and bone mineral density: Association and allele-specific expression in humans. *Bone.* 2014;64c:166-72.
3. Stagi S, Cavalli L, Iurato C, Seminara S, Brandi ML, de Martino M. Bone metabolism in children and adolescents: main characteristics of the determinants of peak bone mass. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2013;10(3):172-9.
4. Bianchi ML. Osteoporosis in children and adolescents. *Bone.* 2007;41(4):486-95.
5. Zhang C, Liu Z, Klein GL. Overview of pediatric bone problems and related osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2012;12(3):174-82.
6. Mussa A, Repici M, Fiore L, Tuli G, Porta F, Matarazzo P. Bone quantitative ultrasound in congenital and acquired childhood multiple pituitary failure. *Ultrasound Med Biol.* 2010;36(5):726-32.
7. Ekbote VH, Khadilkar V, Chiplonkar SA, Khadilkar A, Mughal Z. Low bone status in Indian growth hormone-deficient children. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2012;25(9-10):969-76.
8. Vignolo M, Di Battista E, Parodi A, Torrisi C, De Terlizzi F, Aicardi G. Bone quality assessed by phalangeal quantitative ultrasonography in children and adolescents with isolated idiopathic growth hormone deficiency. *J Endocrinol Invest.* 2007;30(6):445-50.
9. Gahlot M, Khadgawat R, Ramot R, Eunice M, Ammini AC, Gupta N, et al. The effect of growth hormone deficiency on size-corrected bone mineral measures in pre-pubertal children. *Osteoporos Int.* 2012;23(8):2211-7.
10. Hogler W, Briody J, Moore B, Lu PW, Cowell CT. Effect of growth hormone therapy and puberty on bone and body composition in children with idiopathic short stature and growth hormone deficiency. *Bone.* 2005;37(5):642-50.
11. Hogler W, Shaw N. Childhood growth hormone deficiency, bone density, structures and fractures: scrutinizing the evidence. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;72(3):281-9.
12. Baroncelli GI. Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application. *Pediatr Res.* 2008;63(3):220-8.
13. Pluskiewicz W, Adamczyk P, Drozdowska B, Pyrkosz A, Halaba Z. Quantitative ultrasound and peripheral bone densitometry in patients with genetic disorders. *Ultrasound Med Biol.* 2006;32(4):523-8.

14. Hollaender R, Hartl F, Krieg MA, Tyndall A, Geuckel C, Buitrago-Tellez C, et al. Prospective evaluation of risk of vertebral fractures using quantitative ultrasound measurements and bone mineral density in a population-based sample of postmenopausal women: results of the Basel Osteoporosis Study. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(3):391-6.
15. Baroncelli GI, Federico G, Bertelloni S, Sodini F, De Terlizzi F, Cadossi R, et al. Assessment of bone quality by quantitative ultrasound of proximal phalanges of the hand and fracture rate in children and adolescents with bone and mineral disorders. *Pediatr Res.* 2003;54(1):125-36.
16. Paula LP, Czepielewski MA. [Evaluating diagnosis methods on childhood GH (DGH) deficiency: IGFs, IGFbPs, releasing tests, GH rhythm and image exams]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008;52(5):734-44.
17. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of growth hormone (GH) deficiency in childhood and adolescence: summary statement of the GH Research Society. GH Research Society. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(11):3990-3.
18. The WHO Child Growth Standards <http://www.who.int/childgrowth/en/> [07-14-2014].
19. Greulich WW, Pyle SI. Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist 1959. 2nd edition. Stanford University Press, Stanford, California.
20. ABEP, Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. Critério de classificação econômica Brasil, 2012 <http://www.abep.org>.
21. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(1):53-8.
22. Glanz K, Yaroch AL, Dancel M, Saraiya M, Crane LA, Buller DB, et al. Measures of sun exposure and sun protection practices for behavioral and epidemiologic research. *Arch Dermatol.* 2008;144(2):217-22.
23. Specker BL, Valanis B, Hertzberg V, Edwards N, Tsang RC. Sunshine exposure and serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in exclusively breast-fed infants. *J Pediatr.* 1985;107(3):372-6.
24. Crocker PR, Bailey DA, Faulkner RA, Kowalski KC, McGrath R. Measuring general levels of physical activity: preliminary evidence for the Physical Activity Questionnaire for Older Children. *Med Sci Sports Exerc.* 1997;29(10):1344-9.
25. da Silva RC, Malina RM. Nível de atividade física em adolescentes do Município de Niterói, Rio de Janeiro. 2000;16:1091-7.
26. Tanner JM. Physical growth and development. In: Forfar JO, Arnell CC, editors. *Textbook of pediatrics.* Churchill, Livingstone, Edinburgh. 1978. p. 249-303.
27. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1911-30.

28. Carter DR, Bouxsein ML, Marcus R. New approaches for interpreting projected bone densitometry data. *J Bone Miner Res.* 1992;7(2):137-45.
29. Crabtree NJ, Arabi A, Bachrach LK, Fewtrell M, El-Hajj Fuleihan G, Kecskemethy HH, et al. Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Interpretation and Reporting in Children and Adolescents: The Revised 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):225-42.
30. Kelly TL, Wilson KE, Heymsfield SB. Dual energy X-Ray absorptiometry body composition reference values from NHANES. *PLoS One.* 2009;4(9):e7038.
31. Baroncelli GI, Federico G, Vignolo M, Valerio G, del Puente A, Maghnie M, et al. Cross-sectional reference data for phalangeal quantitative ultrasound from early childhood to young-adulthood according to gender, age, skeletal growth, and pubertal development. *Bone.* 2006;39(1):159-73.
32. Bonnicksen SL, Johnston CC, Jr., Kleerekoper M, Lindsay R, Miller P, Sherwood L, et al. Importance of precision in bone density measurements. *J Clin Densitom.* 2001;4(2):105-10.
33. Williams JE, Wilson CM, Biassoni L, Suri R, Fewtrell MS. Dual energy x-ray absorptiometry and quantitative ultrasound are not interchangeable in diagnosing abnormal bones. *Arch Dis Child.* 2012;97(9):822-4.
34. Baroncelli GI, Federico G, Bertelloni S, de Terlizzi F, Cadossi R, Saggese G. Bone quality assessment by quantitative ultrasound of proximal phalanges of the hand in healthy subjects aged 3--21 years. *Pediatr Res.* 2001;49(5):713-8.
35. Fricke O, Tuttlewski B, Schwahn B, Schoenau E. Speed of sound: relation to geometric characteristics of bone in children, adolescents, and adults. *J Pediatr.* 2005;146(6):764-8.
36. Neu CM, Manz F, Rauch F, Merkel A, Schoenau E. Bone densities and bone size at the distal radius in healthy children and adolescents: a study using peripheral quantitative computed tomography. *Bone.* 2001;28(2):227-32.
37. Raum K, Grimal Q, Varga P, Barkmann R, Gluer CC, Laugier P. Ultrasound to assess bone quality. *Curr Osteoporos Rep.* 2014;12(2):154-62.
38. Santos KD, Petroski EL, Ribeiro RR, Guerra-Junior G. Bone quantity and quality in Brazilian female schoolchildren and adolescents. *J Bone Miner Metab.* 2009;27(4):507-12.
39. Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev.* 2010;31(5):629-62.
40. Randsborg PH, Gulbrandsen P, Saltyte Benth J, Sivertsen EA, Hammer OL, Fuglesang HF, et al. Fractures in children: epidemiology and activity-specific fracture rates. *J Bone Joint Surg Am.* 2013;95(7):e42.
41. Holmer H, Svensson J, Rylander L, Johannsson G, Rosen T, Bengtsson BA, et al. Fracture incidence in GH-deficient patients on complete hormone replacement including GH. *J Bone Miner Res.* 2007;22(12):1842-50.

42. Vestergaard P, Jorgensen JO, Hagen C, Hoeck HC, Laurberg P, Rejnmark L, et al. Fracture risk is increased in patients with GH deficiency or untreated prolactinomas--a case-control study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;56(2):159-67.
43. Baroncelli GI, Bertelloni S, Sodini F, Saggese G. Lumbar bone mineral density at final height and prevalence of fractures in treated children with GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(8):3624-31.
44. Cosenza L, Pezzella V, Nocerino R, Di Costanzo M, Coruzzo A, Passariello A, et al. Calcium and vitamin D intakes in children: a randomized controlled trial. *BMC Pediatr*. 2013;13:86.
45. Bueno MB, Fisberg RM, Maximino P, Rodrigues Gde P, Fisberg M. Nutritional risk among Brazilian children 2 to 6 years old: a multicenter study. *Nutrition*. 2013;29(2):405-10.
46. Martini LA, Verly E, Jr., Marchioni DM, Fisberg RM. Prevalence and correlates of calcium and vitamin D status adequacy in adolescents, adults, and elderly from the Health Survey-Sao Paulo. *Nutrition*. 2013;29(6):845-50.
47. Nyberg F. Growth hormone in the brain: characteristics of specific brain targets for the hormone and their functional significance. *Front Neuroendocrinol*. 2000;21(4):330-48.
48. Peters BS, dos Santos LC, Fisberg M, Wood RJ, Martini LA. Prevalence of vitamin D insufficiency in Brazilian adolescents. *Ann Nutr Metab*. 2009;54(1):15-21.
49. Reinhold U, Dirschka T, Hartgens K, Kirchesch H, Ostendorf R, Petering H, et al. Vitamin D supply: from sun or pill? - Attitudes and recommendation on vitamin D and impact on sun protection practices among German general practitioners evaluated by the network of dermato-oncologists, Onkoderm e.V. *Oncol Lett*. 2012;4(6):1392-6.
50. Pettifor JM, Prentice A. The role of vitamin D in paediatric bone health. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25(4):573-84.
51. Ekbote V, Khadilkar A, Chiplonkar S, Mughal Z, Khadilkar V. Enhanced effect of zinc and calcium supplementation on bone status in growth hormone-deficient children treated with growth hormone: a pilot randomized controlled trial. *Endocrine*. 2013;43(3):686-95.
52. Zamboni G, Antoniazzi F, Lauriola S, Bertoldo F, Tato L. Calcium supplementation increases bone mass in GH-deficient prepubertal children during GH replacement. *Horm Res*. 2006;65(5):223-30.
53. Bogazzi F, Rossi G, Lombardi M, Tomisti L, Sardella C, Manetti L, et al. Vitamin D status may contribute to serum insulin-like growth factor I concentrations in healthy subjects. *J Endocrinol Invest*. 2011;34(8):e200-3.
54. Soliman AT, Al Khalaf F, Alhemaidi N, Al Ali M, Al Zyoud M, Yakoot K. Linear growth in relation to the circulating concentrations of insulin-like growth factor I, parathyroid hormone, and 25-hydroxy vitamin D in children with nutritional rickets before and after treatment: endocrine adaptation to vitamin D deficiency. *Metabolism*. 2008;57(1):95-102.

55. Ameri P, Giusti A, Boschetti M, Bovio M, Teti C, Leoncini G, et al. Vitamin D increases circulating IGF1 in adults: potential implication for the treatment of GH deficiency. *Eur J Endocrinol*. 2013;169(6):767-72.
56. Ameri P, Giusti A, Boschetti M, Murialdo G, Minuto F, Ferone D. Interactions between vitamin D and IGF-I: from physiology to clinical practice. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013;79(4):457-63.
57. Specker B, Minett M. Can physical activity improve peak bone mass? *Curr Osteoporos Rep*. 2013;11(3):229-36.
58. Rubeck KZ, Bertelsen S, Vestergaard P, Jorgensen JO. Impact of GH substitution on exercise capacity and muscle strength in GH-deficient adults: a meta-analysis of blinded, placebo-controlled trials. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009;71(6):860-6.
59. Goncalves EM, Sewaybricker LE, Baptista F, Silva AM, Carvalho WR, Santos AO, et al. Performance of phalangeal quantitative ultrasound parameters in the evaluation of reduced bone mineral density assessed by DX in patients with 21 hydroxylase deficiency. *Ultrasound Med Biol*. 2014;40(7):1414-9.
60. Callreus M, McGuigan F, Akesson K. Country-specific young adult dual-energy X-ray absorptiometry reference data are warranted for T-score calculations in women: data from the peak-25 cohort. *J Clin Densitom*. 2014;17(1):129-35.
61. El Maghraoui A, Mouinga Abayi DA, Rkain H, Mounach A. Discordance in diagnosis of osteoporosis using spine and hip bone densitometry. *J Clin Densitom*. 2007;10(2):153-6.
62. Njeh CF, Saeed I, Grigorian M, Kendler DL, Fan B, Shepherd J, et al. Assessment of bone status using speed of sound at multiple anatomical sites. *Ultrasound Med Biol*. 2001;27(10):1337-45.
63. Bauer DC, Gluer CC, Cauley JA, Vogt TM, Ensrud KE, Genant HK, et al. Broadband ultrasound attenuation predicts fractures strongly and independently of densitometry in older women. A prospective study. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arch Intern Med*. 1997;157(6):629-34.
64. Wuster C, Albanese C, De Aloysio D, Duboeuf F, Gambacciani M, Gonnelli S, et al. Phalangeal osteosonogrammetry study: age-related changes, diagnostic sensitivity, and discrimination power. The Phalangeal Osteosonogrammetry Study Group. *J Bone Miner Res*. 2000;15(8):1603-14.

Artigo original 2

Osteoprotegerina, Osteopontina e FGF-23 em crianças e adolescentes com deficiência de hormônio do crescimento em tratamento

RESUMO

Introdução: Osteoprotegerina (OPG), osteopontina (OPN) e fator de crescimento de fibroblastos-23 (FGF-23) são peptídeos sintetizados predominantemente por células ósseas, que participam da regulação do equilíbrio entre formação e reabsorção óssea. Estudos avaliando esses mediadores do metabolismo ósseo em pacientes com deficiência de hormônio do crescimento (DGH) são incipientes.

Objetivo: Comparar as concentrações séricas de OPG, OPN e FGF-23 entre crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com hormônio do crescimento (GH) e indivíduos sadios da mesma faixa etária.

Metodologia: Foram selecionados 36 crianças e adolescentes com DGH, em reposição hormonal adequada, com idades entre 4 e 20 anos incompletos, acompanhados na divisão de Endocrinologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG) e 45 indivíduos sadios pareados por idade e gênero, recrutados em escola pública. Foram excluídos aqueles com doenças ou em uso de medicamentos interferentes do metabolismo ósseo. Todos foram submetidos à avaliação médica, laboratorial, densitométrica e ultrassonográfica para estudo da saúde óssea. As concentrações séricas de OPG, OPN e FGF-23 foram avaliadas pelo método ELISA, segundo os protocolos dos fabricantes. A densitometria (DXA) foi realizada no aparelho *Discovery W*, da marca *Hologic* e a ultrassonografia óssea quantitativa (USQ) de falanges no aparelho *DBM Sonic*, *IGEA*. A análise estatística incluiu testes de comparação (T de Student, Mann Whitney, Kruskal Wallis, de Levine ou Qui-quadrado de Pearson Assintótico, quando apropriados) e testes de correlação (de Pearson ou de Spearman). Os dados foram analisados nos softwares SPSS e Minitab, com nível de significância de 0,05. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (COEP) da UFMG.

Resultados: Não houve diferença em relação à idade, gênero, peso, estágio puberal, raça e classe socioeconômica entre o grupo DGH e os controles. Os pacientes (27 meninos, média de idade de $12,3 \pm 4,3$ anos) faziam uso de GH por tempo mediano de 3,7 anos, mas eram significativamente mais baixos do que seus pares. As concentrações de OPG foram mais elevadas e de OPN mais baixas no grupo com DGH, em tratamento com GH, em relação ao grupo controle. Já a mediana do FGF-23 não foi diferente entre os dois grupos, apesar da menor variabilidade nos valores desse hormônio nos pacientes com DGH. As concentrações de OPN foram influenciadas pelo tempo de tratamento com GH, com concentrações mais baixas no início do tratamento. Não foi encontrada correlação significativa entre as concentrações de OPG, OPN e FGF-23 e as variáveis densitométricas e ultrassonográficas.

Conclusões: As concentrações séricas de OPG e OPN de crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH, diferem de seus pares sadios. Nossos resultados sugerem que a elevação da OPG e a diminuição da OPN são mecanismos envolvidos no processo

de recuperação da massa óssea desses indivíduos durante a terapia com o GH, com normalização mais rápida da OPN durante o tratamento.

Palavras-chave: hormônio do crescimento, deficiência; doença óssea, metabólica; osteoprotegerina; osteopontina e fator de crescimento de fibroblastos-23.

ABSTRACT

Introduction: Osteoprotegerin (OPG), osteopontin (OPN) and fibroblast growth factor-23 (FGF-23) are peptides synthesized predominantly by bone cells that participate in the regulation of the balance between bone formation and resorption. Studies evaluating these mediators of bone metabolism in patients with growth hormone deficiency (GHD) are incipient.

Objective: To compare the serum levels of OPG, OPN and FGF-23 among children and adolescents with GHD, in treatment with growth hormone (GH), and healthy subjects of the same age range.

Methods: Thirty six children and adolescents with GHD, on appropriate hormone replacement, aged between 4 and 20 years of old and followed at the Pediatric Endocrinology Clinic of Hospital das Clínicas at Federal University of Minas Gerais (HC-UFMG), were selected. Forty five healthy subjects matched for age and sex were recruited in a public school. Subjects with diseases or in use of drugs that interfere in bone metabolism were excluded. All participants were submitted to a medical, laboratorial and radiological evaluation. Serum levels of OPG, OPN and FGF-23 were evaluated by ELISA method, according to manufacturer's protocols. Densitometry (DXA) was performed on Discovery W, Hologic device and quantitative ultrasound (QUS) of phalanges on DBM Sonic, IGEA equipment. Statistical analysis included comparison tests (Student's T, Mann Whitney, Kruskal Wallis, Levine's or Asymptotic Pearson's chi-square, when appropriate) and correlation tests (Pearson's or Spearman's). Data were analyzed using softwares SPSS and Minitab, with a significance level of 0.05. The study was approved by the local research ethics committee (COEP) of UFMG.

Results: There was no difference in relation to age, sex, weight, pubertal stage, race and socioeconomic class between the GHD group and the control group. Patients (27 boys, mean age 12.3 ± 4.3 years) were using GH for a median time of 3.7 years, but they were significantly shorter than their peers. OPG levels were higher and OPN levels were lower in the GHD group, on GH treatment, in relation to the control group. FGF-23 median was not different between the two groups, despite the lower variability of the values of this hormone in GHD patients. OPN levels were influenced by the duration of GH treatment, with lower levels in the beginning of the treatment. No significant correlations were found between OPG, OPN and FGF-23 levels and densitometric or ultrasonographic variables.

Conclusions: Children and adolescents with GHD, on GH treatment, have OPG and OPN levels that differ from their healthy peers. Our results suggest that the increase of OPG and the decrease of OPN are mechanisms involved in the process of bone mass recovery of these subjects during GH therapy, with faster normalization of OPN during treatment.

Keywords: growth hormone, deficiency; bone disease, metabolic; osteoprotegerin; osteopontin and fibroblast growth factor-23.

Introdução

O hormônio do crescimento (GH) é um dos principais reguladores da homeostase óssea. Durante a infância e adolescência, a deficiência de GH (DGH) não tratada leva a prejuízo na aquisição de massa óssea, com atraso na maturação esquelética e baixa estatura grave^{1, 2}, embora seja controversa sua repercussão sobre a densidade mineral óssea e sobre a obtenção de um pico de massa óssea adequado³.

O equilíbrio entre formação e reabsorção ósseas, importante para o acúmulo de massa óssea durante o crescimento, é regulado por múltiplos mediadores. Osteoprotegerina (OPG), osteopontina (OPN) e fator de crescimento de fibroblastos-23 (FGF-23), peptídeos sintetizados, predominantemente, por células ósseas, estão envolvidos nesse processo e têm sido estudados em doenças que cursam com alteração da massa óssea⁴⁻⁶. A OPG é uma citocina que participa do processo de remodelamento, inibindo a osteoclastogênese⁷. A OPN é uma proteína não colágena da matriz óssea⁸ que parece ter ação inibitória sobre a mineralização⁹ e estimulatória sobre a reabsorção¹⁰. Já o FGF-23 é um hormônio regulador da homeostase mineral que diminui as concentrações plasmáticas de fosfato¹¹ e também parece ter ações inibitórias diretas sobre a mineralização óssea¹².

Estudos avaliando esses mediadores do metabolismo ósseo na DGH são incipientes. Pelo nosso conhecimento, as concentrações de OPG e de FGF-23 foram relatadas apenas uma única vez em crianças com DGH e as concentrações de OPN nunca foram avaliadas em crianças ou adultos com a doença. O GH parece estimular a síntese de OPG *in vitro*¹³, mas não foi encontrada diferença nas concentrações dessa citocina entre crianças com secreção deficiente de GH e controles¹⁴. Já as concentrações séricas de FGF-23 aumentaram em crianças com DGH logo após o início do tratamento com o GH¹⁵.

Em crianças e adolescentes com DGH a avaliação desses mediadores poderia proporcionar um estudo mais aprofundado e ao mesmo tempo menos invasivo, complementando o estudo da massa óssea, extremamente complexo nesses pacientes¹⁶. Além disso, poderia também fornecer dados importantes para a compreensão da fisiopatologia da DGH no osso.

Dessa maneira, o objetivo desse estudo foi avaliar as concentrações séricas de OPG, OPN e FGF-23 nas crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH e comparar os resultados com grupo controle constituído por indivíduos sadios da mesma faixa etária.

Pacientes e métodos

Desenho do estudo

Trata-se de estudo transversal, utilizando uma amostra de conveniência que incluiu 36 pacientes com diagnóstico confirmado de DGH, em tratamento e 45 indivíduos sadios, pareados por idade e gênero, como grupo controle.

População

Pacientes

Incluiu todos os pacientes com idades entre quatro e 20 anos incompletos, com diagnóstico confirmado de DGH clássica, em tratamento com GH, que estavam em acompanhamento regular na divisão de Endocrinologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG) durante o período da coleta de material para o estudo (abril a setembro de 2013) e que não preenchiam nenhum critério de exclusão.

O diagnóstico de DGH foi realizado de acordo com critérios rígidos estabelecidos pelas literaturas nacional e internacional^{17, 18}: baixa estatura (escore-Z de altura < -2 desvios-padrão para idade e gênero), baixa velocidade do crescimento (percentil da velocidade de crescimento < 25 para idade e gênero), baixo IGF-1 (escore-Z do IGF-1 < -2 desvios-padrão para idade e gênero) e falha em mostrar uma concentração sérica de GH > 5 µg/L (medido por ensaio de quimioluminescência) após dois testes provocativos com estímulo pela clonidina (0,15 mg/m²) e pela insulina (0,05 U/Kg).

Todos os pacientes estavam em tratamento regular com GH na dose média de 28 ± 3,3 µg/Kg/dia (0,62 ± 0,07 U/Kg/sem), em seis ou sete aplicações semanais, via

subcutânea. A dose do GH era ajustada para manter as concentrações de IGF-1 dentro dos valores de referência para a faixa etária.

Os pacientes que apresentavam outras deficiências hormonais hipofisárias, além da DGH, estavam recebendo terapia de reposição adequada há pelo menos seis meses. Os pacientes com deficiência de TSH, ACTH e ADH faziam uso de levotiroxina via oral, acetato de hidrocortisona via oral e desmopressina via intranasal, respectivamente. Apenas pacientes do sexo masculino tinham deficiência de LH e FSH confirmada à época do estudo. Todos estavam em uso de testosterona via intramuscular, iniciada a partir de 14 anos de idade, em doses crescentes para mimetizar o desenvolvimento puberal normal.

Os critérios de exclusão utilizados no estudo foram: não estar em reposição hormonal adequada; apresentar doença óssea ou outra doença crônica; ou fazer uso de qualquer medicamento que pudesse interferir no metabolismo ósseo, incluindo suplementação de cálcio e vitaminas.

Controles

O grupo controle foi composto por crianças e adolescentes hígidos, pareados por idade e gênero com o grupo DGH, recrutados em escola da rede pública de ensino. A participação no estudo foi voluntária.

A ausência de doença atual foi determinada por meio de anamnese e exame físico. Os critérios de exclusão foram: ter história progressiva de condição que pudesse ser prejudicial para a saúde óssea (prematuridade extrema ou doença grave, por exemplo) apresentar baixo peso, baixa estatura, sobrepeso ou obesidade, de acordo com as curvas de referência da Organização Mundial da Saúde (OMS)¹⁹ e fazer uso de medicamentos, incluindo suplementação vitamínica e mineral.

Protocolo do estudo

A avaliação clínico-laboratorial dos participantes foi realizada pessoalmente, por pesquisadores treinados, numa mesma ocasião e consistiu de:

- Anamnese dirigida por questionário estruturado com investigação da idade, gênero, história pregressa e atual de doenças, uso de medicações e vitaminas.
- Exame físico com mensuração da pressão arterial sistêmica, avaliação da cor da pele, do estágio puberal e realização de antropometria: peso, altura e índice de massa corporal (IMC).
- Coleta de sangue para dosagem de cálcio total, fósforo, magnésio, fosfatase alcalina, ureia, creatinina, IGF-1, T4 livre, 25-OH vitamina D, paratormônio (PTH), OPG, OPN e FGF-23.
- Realização de densitometria óssea (DXA) e ultrassonografia óssea quantitativa (USQ) de falanges.

Avaliação clínica e antropométrica

Dados como a causa da DGH, idade de início, dose e tempo de tratamento com GH, reposição de outras deficiências hormonais hipofisárias e adesão ao tratamento foram obtidos dos prontuários dos pacientes.

A estatura foi obtida no estadiômetro de Harpenden com precisão de 1 mm e o peso em balança digital com escala de 100 g. O IMC foi calculado pela fórmula peso (Kg) ÷ altura (m)². Os escores-Z de altura e IMC para idade foram obtidos a partir das curvas de referência da OMS¹⁹, utilizando os programas WHO Anthro[®] (versão 3.2.2) e WHO AnthroPlus[®] (versão 1.0.4). O estágio puberal foi avaliado pelos critérios de Tanner²⁰.

Coleta e processamento das amostras

A coleta de sangue foi realizada em veia periférica, entre 7 e 9 horas da manhã, após jejum de 12 horas. Para análise da OPG, OPN e do FGF-23 as amostras foram coletadas em tubos com gel separador, centrifugadas e o soro congelado a -80° C até a data do ensaio (janeiro de 2014). Os demais exames foram analisados logo após a coleta.

Ensaio imunoenzimáticos

As concentrações séricas de OPG e OPN foram avaliadas pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) sanduíche utilizando-se os kits da *R&D Systems* (Minneapolis, MN, EUA). A análise do FGF-23 foi realizada utilizando-se o kit *Human FGF-23 (c-Term) ELISA kit* da *Immutopics Inc.* (San Clemente, CA, EUA). Os ensaios foram realizados de acordo com os protocolos determinados pelos fabricantes.

Avaliação da massa óssea

A avaliação da massa óssea pela DXA foi realizada sempre pelo mesmo operador e no mesmo aparelho modelo *Discovery W* da marca *Hologic Inc.* (Waltham, MA, EUA), software versão APEX 3.3. Conforme recomendação da *International Society for Clinical Densitometry*, 2013¹⁶, o conteúdo mineral ósseo de corpo total sem a cabeça (CMO CTsc; em g) foi obtido e expresso em escores-Z para a idade e para a altura, utilizando-se as curvas de referência pediátricas da *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) 2008, disponibilizadas pelo software. Por falta de valores de referência, os participantes do estudo com menos de 8 anos de idade ou menos de 120 cm de altura não tiveram seus escores-Z calculados e por isso não foram incluídos nas análises desses dados padronizados. Os subgrupos analisados para essas variáveis permaneceram pareados por idade e gênero.

A USQ foi realizada sempre pelo mesmo examinador e no mesmo aparelho *DBM Sonic Bone Profiler*, modelo *BP01*, *IGEA Clinical Biophysics*, Carpi, Modena, Itália. Os parâmetros que avaliam o status ósseo foram medidos segundo o protocolo padrão do fabricante, na extremidade distal da diáfise das falanges proximais da mão não dominante, nos dedos de II a V. O equipamento forneceu automaticamente as medidas da velocidade do som amplitude dependente (AD-SoS - *amplitude dependent speed of sound*) e do tempo de transmissão óssea (BTT - *bone transmission time*), que foram expressas em escores-Z para idade e altura, a partir de curvas de referência pediátricas contidas no software do aparelho²¹.

Análise estatística

As variáveis quantitativas foram descritas como média e desvio-padrão (DP) quando tinham distribuição normal e mediana e intervalo interquartil ($IQR=Q3-Q1$) quando não tinham distribuição normal. A normalidade das variáveis foi verificada pelo teste de Shapiro Wilk. As comparações entre duas variáveis quantitativas foram realizadas pelo teste T de Student (quando tinham distribuição normal) e teste de Mann Whitney (distribuição não normal). Para comparações entre três grupos foi utilizado o teste de Kruskal Wallis (distribuição não era normal). Quando o resultado do Kruskal Wallis foi significativo ao nível de 0,05, utilizou-se o teste de Mann Whitney com correção de Bonferroni, assim o nível de significância foi de 0,017.

Para comparar o desvio-padrão (variabilidade) entre dois grupos foi utilizado o teste de Levine.

As variáveis qualitativas foram expressas em frequências absolutas e porcentagem. As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste Qui-quadrado de Pearson Assintótico (20% dos valores esperados estavam entre 1 e 5 e 80% maiores ou iguais a 5).

Para análise de correlação entre as variáveis quantitativas do estudo, utilizou-se o teste de correlação de Pearson quando as variáveis tinham distribuição normal e o teste de correlação de Spearman quando não tinham distribuição normal.

O nível de significância utilizado foi de 0,05. Toda a análise estatística foi realizada no programa SPSS, versão 20.0, exceto o teste de variabilidade que foi realizado no programa Minitab, versão 16.1.1.

Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG. Os participantes foram incluídos somente mediante concordância e assinatura do termo de consentimento por parte do responsável e do próprio paciente, conforme a idade.

Resultados

Caracterização do grupo DGH e comparação com grupo controle

Um total de 81 indivíduos participaram do estudo, sendo 36 com DGH, em tratamento com GH e 45 sadios.

Entre os 36 participantes com DGH, 27 eram do sexo masculino e a média de idade foi de $12,3 \pm 4,3$ anos, variando de 4 a 19 anos. A idade média de início do GH foi de $7,86 \pm 4,79$ anos. A mediana do tempo de uso do GH foi de 3,70 (IQR: 4,60) anos. Dezenove pacientes (52,8%) ainda apresentavam altura abaixo do -2 DP para a idade à época do estudo e vinte e oito (77,8%) apresentavam uma ou mais deficiências hormonais hipofisárias, além da DGH e estavam recebendo terapia de reposição adequada, conforme critério de inclusão. Vinte e seis tinham diagnóstico de hipotireoidismo, 21 de hipocortisolismo, 7 de hipogonadismo e 3 de diabetes insipidus. Os outros oito pacientes com DGH isolada tinham alteração de sela túrcica à ressonância magnética de crânio, evidenciando hipófise hipoplásica e neuro-hipófise ectópica. Do total, trinta e um pacientes (86,1%) tinham hipopituitarismo congênito, os outros cinco restantes apresentavam a forma adquirida da doença, secundária à remoção cirúrgica de lesão no sistema nervoso central (craniofaringioma, meduloblastoma ou adenoma) (anexo 9).

Foram realizadas análises comparativas das principais variáveis estudadas entre os participantes com DGH isolada e aqueles com hipopituitarismo. Como não houve diferença entre os dois grupos, o restante das análises foi realizado levando-se em consideração o grupo total de pacientes.

Quando foram realizadas comparações entre o grupo com DGH e o grupo controle, não houve diferença significativa em relação à idade ($p=0,939$) e gênero ($p=0,221$), mostrando um pareamento adequado. Os pacientes com DGH eram significativamente mais baixos para a idade em relação aos membros do grupo controle ($p<0,0001$). Os demais parâmetros (raça, peso, escore-Z do IMC para idade e estágio puberal) não diferiram entre os dois grupos (tabela 1).

Tabela 1: Comparação dos parâmetros sociodemográficos e antropométricos entre o grupo com DGH e o grupo controle.

Parâmetros	DGH n=36	Controle n=45	Valor p
Idade (anos) [#]	12,3 ± 4,3	12,2 ± 4,1	0,939 (1)
Gênero**			
Feminino	9 (25,0)	17 (37,8)	0,221 (2)
Masculino	27 (75,0)	28 (62,2)	
Raça**			
Branca	9 (25)	13 (28,9)	0,696 (2)
Não Branca	27 (75)	32 (71,1)	
Dados antropométricos			
Peso (Kg) [#]	39,9 ± 13,7	35,5 ± 13,2	0,149 (1)
Altura (cm) [#]	136,2 ± 20,8	149,2 ± 20,5	0,006 (1)
Altura (Z) [#]	-1,93 ± 1,69	0,12 ± 0,92	< 0,0001 (1)
IMC (Z) [#]	-0,04 ± 1,5	-0,49 ± 0,78	0,107 (1)
Estádio puberal (Tanner)**			
1	20 (55,6)	16 (35,6)	0,198 (2)
2-3	6 (16,7)	11 (24,4)	
4-5	10 (27,8)	18 (40,0)	

DGH: Deficiência de hormônio do crescimento; IMC: índice de massa corporal.

[#] Valores expressos em média e desvio-padrão, (1) Teste T;

**Valores expressos em número e porcentagem, (2) Teste Qui-quadrado de Pearson Assintótico.

Não houve diferença entre as concentrações de cálcio total, fósforo, magnésio, fosfatase alcalina, ureia, creatinina, T4 livre, 25-OH vitamina D e PTH entre o grupo com DGH e os controles. As concentrações de IGF-1 foram significativamente mais baixas nos doentes (p=0,007), mas estavam dentro da faixa de normalidade (tabela 2).

Tabela 2: Comparação dos resultados dos parâmetros bioquímicos entre os indivíduos com DGH em tratamento e o grupo controle, pareado por idade e gênero.

Parâmetros	DGH n=36	Controle n=45	Valor p
Cálcio total (mg/dL) [#]	9,95 ± 0,36	9,83 ± 0,34	0,146 (1)
Fósforo (mg/dL) [#]	5,31 ± 0,55	5,17 ± 0,80	0,369 (1)
Magnésio (mg/dL) [#]	2,00 ± 0,17	2,00 ± 0,16	0,928 (1)
Fosfatase alcalina (U/L) [#]	211,78 ± 60,48	202,53 ± 87,40	0,591 (1)
Ureia (mg/dL) [#]	23,69 ± 7,78	25,07 ± 5,2	0,346 (1)
Creatinina (mg/dL)*	0,56 (0,17)	0,55 (0,27)	0,280 (2)
IGF-1 (ng/mL)*	233,90 (269)	336,00 (227)	0,007 (2)
T4 livre (ng/dL) [#]	1,15 ± 0,26	1,20 ± 0,18	0,266 (1)
25-OH vitamina D (ng/mL)*	23,00 (11,00)	26,00 (10,0)	0,458 (2)
PTH (pg/mL)*	51,30 (23,20)	42,90 (29,20)	0,425 (2)

DGH: deficiência de hormônio do crescimento; IGF-1: fator de crescimento insulina-símile tipo I; PTH: paratormônio.

[#] Valores expressos em média e desvio-padrão, (1) Teste T;

* Valores expressos em mediana e intervalo interquartil, (2) Teste de Mann Whitney.

Os pacientes com DGH apresentaram valores médios de CMO CTsc para idade significativamente menores em relação aos indivíduos saudáveis da mesma faixa etária ($p < 0,0001$). Já os valores médios de CMO CTsc para altura não foram diferentes entre os dois grupos ($p = 0,109$). O mesmo padrão foi observado em relação às variáveis ultrassonográficas AD-SoS e BTT, sem diferença entre os grupos após ajuste para a altura (tabela 3).

Tabela 3: Comparação dos resultados densitométricos e ultrassonográficos entre os grupos DGH e controle, pareados por idade e gênero.

Parâmetros	DGH (n=36)	Controle (n=45)	Valor p
DXA			
CMO CTsc Z idade [#]	-1,62 ± 1,08 (n=30)	-0,35 ± 0,94 (n=38)	<0,0001 (1)
CMO CTsc Z altura [#]	-0,63 ± 1,04 (n=26)	-1,02 ± 0,87 (n=40)	0,109 (1)
USQ de falanges			
AD-SoS Z idade [#]	- 0,76 ± 1,40	0,88 ± 1,23	<0,0001 (1)
AD-SoS Z altura*	0,00 (1,00)	1,00 (2,00)	0,112 (2)
BTT Z idade [#]	-0,84 ± 1,44	0,40 ± 0,96	<0,0001 (1)
BTT Z altura [#]	0,41 ± 1,05	0,39 ± 0,97	0,895 (1)

DGH: deficiência de hormônio do crescimento; DXA: densitometria óssea; CMO CTsc: conteúdo mineral ósseo de corpo total sem a cabeça; USQ: ultrassonografia óssea quantitativa; AD-SoS: velocidade do som amplitude dependente; BTT: tempo de transmissão óssea.

Valores expressos em média e desvio-padrão, (1) Teste T;

* Valores expressos em mediana e intervalo interquartil, (2) Teste de Mann Whitney.

Comparação das concentrações séricas de OPG, OPN e FGF-23 entre o grupo com DGH e o grupo controle

As concentrações de OPG foram significativamente mais elevadas nos pacientes com DGH, em tratamento com GH, em relação aos indivíduos saudáveis (mediana de 1.115,97 pg/mL; IQR: 368,63, versus 818,18 pg/mL; IQR:578,9, respectivamente) ($p < 0,0001$) (figura 1).

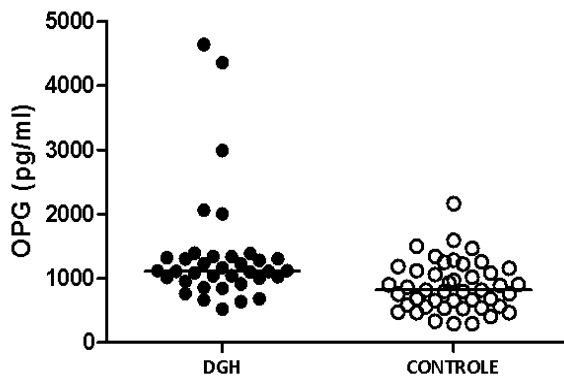


Figura 1: Comparação das concentrações séricas de OPG entre os grupos DGH e controle, pareados por idade e gênero.

As concentrações de OPN foram significativamente menores no grupo com DGH (mediana de 2.886,92 pg/mL; IQR: 3.047,97) quando comparadas aos controles (mediana de 5.460,40 pg/mL; IQR: 3.545,72) ($p < 0,0001$) (figura 2).

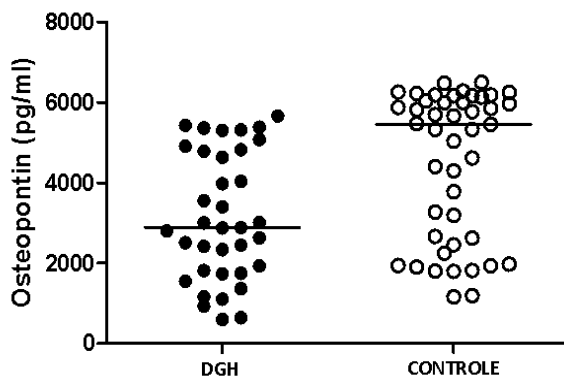


Figura 2: Comparação das concentrações séricas de OPN entre os grupos DGH e controle, pareados por idade e gênero.

Já a mediana do FGF-23 não foi diferente entre os dois grupos (32,92 pg/mL; IQR: 11,37 nos doentes e 32,11 pg/mL; IQR:32,02 nos controles) ($p = 0,743$). Entretanto, foi encontrada uma diferença no desvio-padrão e o grupo controle apresentou uma variabilidade maior nas concentrações de FGF-23 em relação ao grupo com DGH (DP de 32,84 versus 9,37, respectivamente) ($p < 0,0001$) (figura 3).

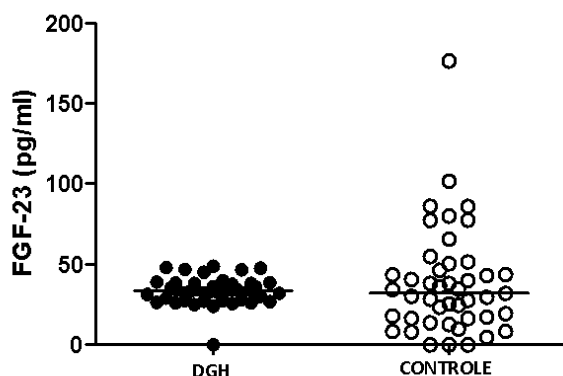


Figura 3: Comparação das concentrações séricas de FGF-23 entre os grupos DGH e controle, pareados por idade e gênero.

Para avaliar a associação das concentrações séricas de OPG, OPN e FGF-23 com o tempo de tratamento com GH, o grupo DGH foi dividido em dois (com 18 pacientes cada): < 4 anos versus ≥ 4 anos de tratamento, comparando-se ambos os grupos com o grupo controle. Não houve diferença significativa nas concentrações de OPG entre os grupos com DGH com menor (1.232,96 pg/mL; IQR: 437,30) ou maior tempo de tratamento (1.090,56 pg/mL; IQR: 321,31) ($p=0,383$). Os dois grupos apresentaram concentrações mais elevadas da proteína em relação aos controles (818,18 pg/mL; IQR: 578,91) ($p=0,002$ e $p=0,008$, respectivamente). As concentrações de OPN foram significativamente mais baixas no grupo DGH com menos de 4 anos de tratamento com GH (2.456,92 pg/mL; IQR:1.645,91) em relação ao grupo com mais de 4 anos de tratamento (4.832,42 pg/mL; IQR:3.116,75) e em relação ao grupo controle (5.460,40 pg/mL; IQR: 3.545,72) ($p=0,005$). Não houve diferença nas concentrações de OPN entre os dois últimos grupos ($p=0,047$). Em relação ao FGF-23, não houve diferença entre os três grupos ($p=0,946$).

Correlação entre as concentrações de OPG, OPN e FGF-23 e os dados clínico-laboratoriais, densitométricos e ultrassonográficos nos pacientes com DGH

As concentrações de OPG se correlacionaram negativamente com as concentrações de PTH ($r= -0,371$; $p=0,026$).

Não houve correlação entre as concentrações de OPG, OPN e FGF-23 e os demais parâmetros clínico-laboratoriais. Também não houve associação com as variáveis densitométricas ou ultrassonográficas.

Discussão

Pelo nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo que avaliou as concentrações de OPN e o segundo que avaliou as concentrações de OPG e de FGF-23 em crianças e adolescentes com DGH. Nossos resultados mostraram concentrações de OPG mais elevadas e de OPN mais baixas em crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH, em relação a indivíduos saudáveis da mesma faixa etária, sem diferença nas concentrações medianas de FGF-23 entre os dois grupos. Os resultados sugerem que as concentrações de OPN são influenciadas pelo tempo de tratamento com GH, com concentrações mais baixas no início do tratamento.

As alterações encontradas no metabolismo ósseo poderiam ser devidas à própria DGH ou ao tratamento com GH. A OPG é uma citocina pertencente à família do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), produzida pelas células da linhagem osteoblástica e fundamental na regulação da atividade osteoclástica. Agindo como um receptor competitivo, impede a ligação do RANKL ao seu receptor RANK, inibindo a reabsorção óssea⁷. Superexpressão de OPG em ratos transgênicos resulta em osteopetrose grave por inibição da osteoclastogênese²². Pelo contrário, ratos deficientes em OPG desenvolvem osteoporose devido à atividade do RANKL sem oposição²³. O sistema OPG/RANKL/RANK tem sido implicado na patogênese da redução da massa óssea em diversas doenças crônicas^{4, 6, 24-29}. OPG sérica elevada foi demonstrada em algumas dessas condições, tendo sido sugerido que esse achado possa ser um mecanismo de compensação em resposta à reabsorção óssea aumentada^{6, 24, 27, 29}. Outras doenças foram associadas à OPG diminuída, sendo proposto o envolvimento direto da citocina na perda óssea^{4, 25, 26, 28}. Vários hormônios, fatores de crescimento, citocinas e prostaglandinas regulam o sistema OPG/RANKL/RANK³⁰. O eixo GH/IGF-1 parece modular duplamente esse sistema, com o GH estimulando a produção de OPG¹³ e o IGF-1 induzindo a síntese de RANKL³¹. O GH aumentou as concentrações de OPG no sangue e no tecido ósseo de adultos com DGH^{32, 33}. Um único e pequeno estudo que avaliou 13 crianças com baixa estatura e secreção deficiente de GH, não encontrou

diferença nas concentrações de OPG e RANKL em relação ao grupo controle, antes do início do tratamento com o hormônio¹⁴. Baseando-se nesses dados, podemos pressupor que as crianças e os adolescentes com DGH do presente estudo tinham concentrações mais elevadas de OPG em relação aos participantes saudáveis provavelmente porque se encontravam em processo de recuperação, com metabolismo voltado para a formação óssea em detrimento da reabsorção, condição secundária aos efeitos anabólicos do tratamento com o GH. Os dados sugerem também que esse processo parece ocorrer durante todo o tempo de tratamento. Em contrapartida, o PTH favorece a reabsorção óssea, inibindo a expressão do gene da OPG³⁴, o que poderia explicar a correlação negativa encontrada entre eles.

As concentrações de OPN foram significativamente mais baixas nos pacientes com DGH em relação aos controles e essa diferença ocorreu devido aos níveis mais baixos encontrados naqueles pacientes com menos tempo de uso do GH. A OPN é uma proteína ácida altamente fosforilada, multifuncional^{35, 36}, pertencente à família das proteínas SIBLINGs (*small, integrin-binding ligand, N-linked glycoproteins*)³⁷. No osso, é produzida por osteoblastos e osteoclastos⁸ e influencia os processos de mineralização e remodelamento^{9, 38, 39}. A OPN parece inibir a mineralização óssea, ligando-se aos cristais de hidroxiapatita e impedindo a formação e o crescimento dos mesmos^{9, 40}. Além disso, tem sido demonstrado que ela é capaz de estimular a migração e adesão dos osteoclastos e conseqüentemente a reabsorção óssea¹⁰. Ratos deficientes em OPN mostraram mineralização óssea aumentada⁴¹, função osteoclástica diminuída e aumento da massa óssea¹⁰. A deficiência de OPN impediu a ativação dos osteoclastos e a perda óssea na deficiência estrogênica⁴² e na estimulação pelo PTH⁴³. Pelo contrário, concentrações aumentadas de OPN foram encontradas em modelos animais de osteomalácia^{44, 45}. Em concordância com os achados de OPG mais elevada no grupo com DGH, as concentrações de OPN poderiam estar mais baixas em relação aos controles também de forma secundária ao tratamento com GH, para promover o ganho de massa óssea e a mineralização nesses pacientes. Isso justificaria o achado de concentrações mais baixas de OPN em indivíduos no início do tratamento. Não encontramos trabalhos avaliando as concentrações de OPN em crianças ou adultos com DGH. Alguns estudos mostraram níveis de OPN significativamente mais elevados em mulheres pós-menopáusicas em relação às mulheres pré-menopáusicas e esses níveis foram inversamente associados à densidade mineral óssea^{5, 46, 47}. Foi sugerido, inclusive,

que a OPN poderia ser utilizada como um marcador para o diagnóstico precoce de osteoporose em mulheres após a menopausa⁴⁶. A administração de PTH de forma intermitente nas mulheres com osteoporose foi capaz de diminuir as concentrações de OPN e promover melhora concomitante da massa óssea⁴⁸. Assim, as ações anabólicas do GH no osso podem ser semelhantes às do PTH, sendo mediadas, pelo menos em parte, pela diminuição das concentrações de OPN.

Não encontramos diferença nas concentrações medianas de FGF-23 entre os participantes com DGH em tratamento e os controles. O FGF-23 é uma proteína produzida principalmente pelos osteoblastos e osteócitos que funciona como um hormônio regulador da homeostase mineral. O principal órgão alvo do FGF-23 é o rim, onde causa a internalização dos co-transportadores sódio-fosfato nas células tubulares renais proximais e supressão da atividade da 1-alfa hidroxilase. Com isso, provoca aumento da excreção renal de fosfato e diminuição da 1,25(OH)₂ vitamina D o que leva a uma diminuição das concentrações plasmáticas de fosfato¹¹. Além disso, tem sido demonstrada uma ação direta do hormônio na inibição da mineralização óssea¹². A expressão do FGF-23 é estimulada pela 1,25(OH)₂ vitamina D, por níveis aumentados de fosfato sérico e possivelmente também pelo PTH⁴⁹. Ação excessiva ou deficiente do FGF-23 resulta em várias doenças que cursam com hipofosfatemia e hiperfosfatemia, respectivamente, além de raquitismo e osteomalácia^{50, 51}. Além disso, o FGF-23 pode aumentar em doenças que cursam com aumento das concentrações de fosfato, como um mecanismo compensatório⁵². O GH favorece a retenção de fosfato, aumentando o limiar renal do fosfato, um efeito que é independente do PTH e da vitamina D⁵³. Esse efeito é importante para garantir uma mineralização óssea adequada durante a fase de crescimento. O único estudo que avaliou as concentrações séricas de FGF-23 em crianças com DGH não encontrou diferença nas concentrações desse hormônio entre as crianças antes do início do tratamento com GH e os controles saudáveis. Entretanto, foi observado um aumento do FGF-23 nos primeiros oito meses de tratamento com o GH, concomitantemente ao aumento da taxa de reabsorção de fosfato. Os autores concluíram que o GH parece exercer uma influência positiva direta na reabsorção de fosfato, independentemente do FGF-23 e que o aumento nas concentrações desse hormônio após início do GH poderia ser um mecanismo compensatório pelo aumento das concentrações séricas do fosfato¹⁵. Contrariamente, não encontramos, no presente estudo, concentrações aumentadas de FGF-23 no grupo com DGH, em tratamento com

GH, em relação ao grupo sadio. A discordância observada pode ter ocorrido devido ao maior tempo de uso do GH dos pacientes estudados. Pode ser que os níveis de FGF-23 aumentem no início do tratamento com o GH, com o intuito de normalizar as concentrações séricas de fosfato e, em seguida, com o restabelecimento das concentrações do mineral, ocorra normalização dos níveis desse hormônio. Apesar de não termos encontrado diferença nas medianas do FGF-23 entre os dois grupos, foi possível perceber uma menor variabilidade nos valores do hormônio dos pacientes em relação aos controles, o que pode indicar uma alteração nos mecanismos de *feedback* do FGF-23 em razão do uso do GH.

Esse estudo apresentou algumas limitações que devem ser consideradas na interpretação dos seus resultados. Primeiramente, a natureza transversal do estudo, com a impossibilidade de estudar os pacientes antes do início do tratamento para avaliar a influência da própria DGH nas concentrações de OPG, OPN e FGF-23 e a variabilidade da população doente quanto ao tempo de tratamento com o GH. Outra questão, foi a impossibilidade de dosar os marcadores de formação e reabsorção óssea e o RANKL. Esses dados seriam importantes para a confirmação das nossas suposições sobre as causas das alterações encontradas. Já foi demonstrado que a relação OPG/RANKL é um melhor marcador do metabolismo ósseo quando comparado com as concentrações séricas individuais dessas proteínas²⁴. Como o eixo GH/IGF-1 parece influenciar duplamente e de forma antagônica esse sistema, seria de grande valia avaliar a relação entre as duas citocinas nesses pacientes. O encontro de *turnover* ósseo e relação OPG/RANKL aumentados confirmaria nossa hipótese de um estado de recuperação da massa óssea, secundário aos efeitos anabólicos do GH. Outras limitações encontradas não são exclusivas do nosso trabalho, sendo inerentes à dosagem das citocinas OPG e OPN. Essas proteínas não são produzidas apenas no tecido ósseo, circulam no sangue sob diferentes formas e é incerto se as concentrações séricas avaliadas refletem suas atividades no microambiente ósseo.

Dentre os pontos fortes do estudo destacamos a adoção de critérios rígidos de inclusão dos pacientes e dos controles e a utilização de protocolo bem estabelecido para a dosagem dos marcadores ósseos. Outro ponto forte foi a avaliação densitométrica e ultrassonográfica de todos os participantes da pesquisa, o que nos permitiu uma avaliação mais ampla das crianças.

Podemos concluir que as concentrações séricas de OPG e OPN de crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH, diferem de seus pares saudáveis. Nossos resultados sugerem que a elevação da OPG e a diminuição da OPN são mecanismos envolvidos no processo de recuperação da massa óssea desses indivíduos durante a terapia com o GH, com normalização mais rápida da OPN durante o tratamento.

Estudos longitudinais e prospectivos são necessários para confirmar esses achados, aumentando nosso conhecimento sobre os determinantes da aquisição da massa óssea nos pacientes com DGH, antes e durante o tratamento. Uma possível aplicabilidade clínica da monitorização desses mediadores também poderia ser avaliada.

Referências

1. Bex M, Bouillon R. Growth hormone and bone health. *Horm Res.* 2003;60 Suppl 3:80-6.
2. Giustina A, Mazziotti G, Canalis E. Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton. *Endocr Rev.* 2008;29(5):535-59.
3. Hogler W, Shaw N. Childhood growth hormone deficiency, bone density, structures and fractures: scrutinizing the evidence. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;72(3):281-9.
4. Ambroszkiewicz J, Sands D, Gajewska J, Chelchowska M, Laskowska-Klita T. Bone turnover markers, osteoprotegerin and RANKL cytokines in children with cystic fibrosis. *Adv Med Sci.* 2013:1-6.
5. Cho EH, Cho KH, Lee HA, Kim SW. High serum osteopontin levels are associated with low bone mineral density in postmenopausal women. *J Korean Med Sci.* 2013;28(10):1496-9.
6. Siomou E, Challa A, Printza N, Giapros V, Petropoulou F, Mitsioni A, et al. Serum osteoprotegerin, RANKL and fibroblast growth factor-23 in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2011;26(7):1105-14.
7. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev.* 2008;29(2):155-92.
8. Merry K, Dodds R, Littlewood A, Gowen M. Expression of osteopontin mRNA by osteoclasts and osteoblasts in modelling adult human bone. *J Cell Sci.* 1993;104 (Pt 4):1013-20.
9. Boskey AL, Christensen B, Taleb H, Sorensen ES. Post-translational modification of osteopontin: effects on in vitro hydroxyapatite formation and growth. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;419(2):333-8.
10. Chellaiah MA, Kizer N, Biswas R, Alvarez U, Strauss-Schoenberger J, Rifas L, et al. Osteopontin deficiency produces osteoclast dysfunction due to reduced CD44 surface expression. *Mol Biol Cell.* 2003;14(1):173-89.
11. Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiol Rev.* 2012;92(1):131-55.
12. Wang H, Yoshiko Y, Yamamoto R, Minamizaki T, Kozai K, Tanne K, et al. Overexpression of fibroblast growth factor 23 suppresses osteoblast differentiation and matrix mineralization in vitro. *J Bone Miner Res.* 2008;23(6):939-48.
13. Mrak E, Villa I, Lanzi R, Losa M, Guidobono F, Rubinacci A. Growth hormone stimulates osteoprotegerin expression and secretion in human osteoblast-like cells. *J Endocrinol.* 2007;192(3):639-45.
14. Flint J, Wu S, Shott S, Suarez E, De Luca F. Relationships between osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL),

and growth hormone (GH) secretory status in short children. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2009;22(12):1105-12.

15. Gardner J, Ashraf A, You Z, McCormick K. Changes in plasma FGF23 in growth hormone deficient children during rhGH therapy. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2011;24(9-10):645-50.

16. Crabtree NJ, Arabi A, Bachrach LK, Fewtrell M, El-Hajj Fuleihan G, Kecskemethy HH, et al. Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Interpretation and Reporting in Children and Adolescents: The Revised 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):225-42.

17. Paula LP, Czepielewski MA. [Evaluating diagnosis methods on childhood GH (DGH) deficiency: IGFs, IGFbPs, releasing tests, GH rhythm and image exams]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008;52(5):734-44.

18. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of growth hormone (GH) deficiency in childhood and adolescence: summary statement of the GH Research Society. *GH Research Society. J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(11):3990-3.

19. The WHO Child Growth Standards <http://www.who.int/childgrowth/en/> [07-14-2014].

20. Tanner JM. Physical growth and development. In: Forfar JO, Arnell CC, editors. *Textbook of pediatrics.* Churchill, Livingstone, Edinburgh.1978. p. 249-303.

21. Baroncelli GI, Federico G, Vignolo M, Valerio G, del Puente A, Maghnie M, et al. Cross-sectional reference data for phalangeal quantitative ultrasound from early childhood to young-adulthood according to gender, age, skeletal growth, and pubertal development. *Bone.* 2006;39(1):159-73.

22. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* 1997;89(2):309-19.

23. Mizuno A, Amizuka N, Irie K, Murakami A, Fujise N, Kanno T, et al. Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;247(3):610-5.

24. Ostrowska Z, Ziora K, Oswiecimska J, Swietochowska E, Szapska B, Wolkowska-Pokrywa K, et al. RANKL/RANK/OPG system and bone status in females with anorexia nervosa. *Bone.* 2012;50(1):156-60.

25. Wasilewska A, Rybi-Szuminska A, Zoch-Zwierz W. Serum RANKL, osteoprotegerin (OPG), and RANKL/OPG ratio in nephrotic children. *Pediatr Nephrol.* 2010;25(10):2067-75.

26. Salah H, Atfy M, Fathy A, Atfy M, Mansor H, Saeed J. The clinical significance of OPG/sRANKL ratio in thalassemia patients suffering from osteopenia or osteoporosis in Egyptian patients. *Immunol Invest.* 2010;39(8):820-32.

27. Gomes SA, dos Reis LM, Noronha IL, Jorgetti V, Heilberg IP. RANKL is a mediator of bone resorption in idiopathic hypercalciuria. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(5):1446-52.

28. Rouster-Stevens KA, Langman CB, Price HE, Seshadri R, Shore RM, Abbott K, et al. RANKL:osteoprotegerin ratio and bone mineral density in children with untreated juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum.* 2007;56(3):977-83.
29. Moschen AR, Kaser A, Enrich B, Ludwiczek O, Gabriel M, Obrist P, et al. The RANKL/OPG system is activated in inflammatory bowel disease and relates to the state of bone loss. *Gut.* 2005;54(4):479-87.
30. Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini F, Heymann D. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004;15(6):457-75.
31. Wang Y, Nishida S, Elalieh HZ, Long RK, Halloran BP, Bikle DD. Role of IGF-I signaling in regulating osteoclastogenesis. *J Bone Miner Res.* 2006;21(9):1350-8.
32. Lanzi R, Losa M, Villa I, Gatti E, Sirtori M, Dal Fiume C, et al. GH replacement therapy increases plasma osteoprotegerin levels in GH-deficient adults. *Eur J Endocrinol.* 2003;148(2):185-91.
33. Ueland T, Bollerslev J, Flyvbjerg A, Hansen TB, Vahl N, Mosekilde L. Effects of 12 months of GH treatment on cortical and trabecular bone content of IGFs and OPG in adults with acquired GH deficiency: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(6):2760-3.
34. Huang JC, Sakata T, Pflieger LL, Bencsik M, Halloran BP, Bikle DD, et al. PTH differentially regulates expression of RANKL and OPG. *J Bone Miner Res.* 2004;19(2):235-44.
35. Denhardt DT, Noda M, O'Regan AW, Pavlin D, Berman JS. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival. *J Clin Invest.* 2001;107(9):1055-61.
36. Kahles F, Findeisen HM, Bruemmer D. Osteopontin: A novel regulator at the cross roads of inflammation, obesity and diabetes. *Mol Metab.* 2014;3(4):384-93.
37. Staines KA, MacRae VE, Farquharson C. The importance of the SIBLING family of proteins on skeletal mineralisation and bone remodelling. *J Endocrinol.* 2012;214(3):241-55.
38. Ishijima M, Rittling SR, Yamashita T, Tsuji K, Kurosawa H, Nifuji A, et al. Enhancement of osteoclastic bone resorption and suppression of osteoblastic bone formation in response to reduced mechanical stress do not occur in the absence of osteopontin. *J Exp Med.* 2001;193(3):399-404.
39. Ishijima M, Tsuji K, Rittling SR, Yamashita T, Kurosawa H, Denhardt DT, et al. Osteopontin is required for mechanical stress-dependent signals to bone marrow cells. *J Endocrinol.* 2007;193(2):235-43.
40. Hunter GK. Role of osteopontin in modulation of hydroxyapatite formation. *Calcif Tissue Int.* 2013;93(4):348-54.
41. Boskey AL, Spevak L, Paschalis E, Doty SB, McKee MD. Osteopontin deficiency increases mineral content and mineral crystallinity in mouse bone. *Calcif Tissue Int.* 2002;71(2):145-54.

42. Yoshitake H, Rittling SR, Denhardt DT, Noda M. Osteopontin-deficient mice are resistant to ovariectomy-induced bone resorption. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(14):8156-60.
43. Ihara H, Denhardt DT, Furuya K, Yamashita T, Muguruma Y, Tsuji K, et al. Parathyroid hormone-induced bone resorption does not occur in the absence of osteopontin. *J Biol Chem*. 2001;276(16):13065-71.
44. Harmey D, Johnson KA, Zelken J, Camacho NP, Hoylaerts MF, Noda M, et al. Elevated skeletal osteopontin levels contribute to the hypophosphatasia phenotype in *Akp2(-/-)* mice. *J Bone Miner Res*. 2006;21(9):1377-86.
45. Yuan Q, Jiang Y, Zhao X, Sato T, Densmore M, Schuler C, et al. Increased osteopontin contributes to inhibition of bone mineralization in FGF23-deficient mice. *J Bone Miner Res*. 2014;29(3):693-704.
46. Chang IC, Chiang TI, Yeh KT, Lee H, Cheng YW. Increased serum osteopontin is a risk factor for osteoporosis in menopausal women. *Osteoporos Int*. 2010;21(8):1401-9.
47. Fodor D, Bondor C, Albu A, Simon SP, Craciun A, Muntean L. The value of osteopontin in the assessment of bone mineral density status in postmenopausal women. *J Investig Med*. 2013;61(1):15-21.
48. Chiang TI, Chang IC, Lee HS, Lee H, Huang CH, Cheng YW. Osteopontin regulates anabolic effect in human menopausal osteoporosis with intermittent parathyroid hormone treatment. *Osteoporos Int*. 2011;22(2):577-85.
49. Wesseling-Perry K. FGF-23 in bone biology. *Pediatr Nephrol*. 2010;25(4):603-8.
50. Yamazaki Y, Okazaki R, Shibata M, Hasegawa Y, Satoh K, Tajima T, et al. Increased circulatory level of biologically active full-length FGF-23 in patients with hypophosphatemic rickets/osteomalacia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(11):4957-60.
51. Larsson T, Yu X, Davis SI, Draman MS, Mooney SD, Cullen MJ, et al. A novel recessive mutation in fibroblast growth factor-23 causes familial tumoral calcinosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(4):2424-7.
52. Ito N, Fukumoto S, Taguchi M, Takeshita A, Takeuchi Y, Yamada S, et al. Fibroblast growth factor (FGF)23 in patients with acromegaly. *Endocr J*. 2007;54(3):481-4.
53. Caverzasio J, Montessuit C, Bonjour JP. Stimulatory effect of insulin-like growth factor-1 on renal Pi transport and plasma 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Endocrinology*. 1990;127(1):453-9.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo teve como principal objetivo avaliar a saúde óssea de crianças e adolescentes com deficiência de hormônio do crescimento (DGH) em tratamento com GH. Para isso, foi realizada ampla investigação desses pacientes, com avaliação dos hábitos de vida que poderiam interferir na aquisição de uma massa óssea adequada (ingestão de cálcio, exposição ao sol e prática de atividade física), avaliação laboratorial do metabolismo ósteo-mineral, além do estudo da quantidade e da qualidade ósseas por meio da densitometria (DXA) e da ultrassonografia óssea quantitativa (USQ) de falanges.

Nossos resultados sugeriram que crianças e adolescentes com DGH, em tratamento com GH, têm massa óssea reduzida fundamentalmente pela baixa estatura e não por baixa densidade mineral óssea. Verificou-se, ainda, que esses pacientes se encontram em estado de recuperação da massa óssea, com metabolismo ósseo voltado para a formação em detrimento da reabsorção e que mediadores como a osteoprotegerina (OPG) e a osteopontina (OPN) estão envolvidos nesse processo.

Outro achado bastante relevante foi que a população estudada apresentou vários fatores e comportamentos considerados de risco para a saúde óssea (baixa ingestão de cálcio, elevada prevalência de hipovitaminose D e sedentarismo), que, se mantidos por longo período, poderão prejudicar a obtenção de um pico de massa óssea adequado. Diante disso, reforçamos a necessidade de uma abordagem preventiva sistemática desses pacientes, com estímulo à adoção de hábitos de vida mais saudáveis para minimizar e/ou prevenir danos ósseos futuros.

Uma contribuição mais ampla e muito importante foi a demonstração da confiabilidade da USQ de falanges na avaliação da massa óssea da criança e do adolescente. Após análise estatística cuidadosa e de forma surpreendente até mesmo para os pesquisadores do presente estudo, a USQ de falanges se mostrou um método diagnóstico com elevada capacidade para discriminar indivíduos com massa óssea comprometida daqueles com massa óssea normal pela DXA.

A DXA, método mais conhecido, estudado e utilizado, é considerada o padrão-ouro para avaliação da massa óssea em todas as faixas etárias, mas não é adequada para

estudos preventivos em crianças e adolescentes, pelo seu elevado custo, disponibilidade apenas em centros terciários e utilização de radiação ionizante.

O ótimo desempenho da USQ de falanges abre novas perspectivas na avaliação da saúde óssea da criança e do adolescente, cuja demanda é crescente. Pela sua praticidade, poderá ser utilizada não só na investigação de pacientes com doenças crônicas potencialmente deletérias ao esqueleto, mas também em indivíduos, a princípio, sadios e que demonstram comportamentos de risco para saúde óssea, tão comuns na atualidade.

Alertamos, porém, sobre os problemas das populações de referência tanto da DXA quanto da USQ de falanges. Nenhum dos dois métodos utiliza uma população brasileira como referência, o que pode nos levar a interpretações equivocadas de exames individuais na prática clínica. Pelos dados encontrados no presente estudo, a utilização da população de referência norte-americana (NHANES, 2008) pode superestimar os casos de crianças e adolescentes brasileiros com baixa massa óssea. Já a população italiana pode subestimar nossos casos. Dessa forma, temos que ter uma visão crítica sobre os resultados de avaliações individuais.

A opção por realizar a USQ de falanges e adotar a população norte-americana como referência (a mesma utilizada pela DXA) é válida, no sentido de permitir a comparação dos resultados obtidos nesse exame com a DXA, até que uma população de referência brasileira esteja disponível para ambos os métodos. Pensando nisso, um modelo de regressão linear simples foi ajustado, a partir dos dados do grupo controle e obteve-se uma equação que poderá ser utilizada para se estimar a variável densitométrica CMO CTsc a partir da variável ultrassonográfica BTT (que se mostrou mais fidedigna do que a AD-SoS):

$$\text{CMO CTsc estimado} = - 360,485 + 1170,748 \times \text{BTT}$$

Com o CMO CTsc estimado, pode-se calcular o seu respectivo escore-Z utilizando-se a curva de referência norte-americana, disponível no anexo 6 dessa tese, pela fórmula:

$$\text{Escore-Z} = \text{CMO CTsc estimado} - \text{CMO CTsc} / \text{DP}$$

Enfatizamos que comparações equivocadas entre os dois métodos ocorrerão se não for realizada essa uniformização das populações de referência e reforçamos novamente que, o ideal, seria termos, para ambos os métodos, uma curva apropriada para a nossa população.

Uma última consideração, é que os dados aqui encontrados não podem ser extrapolados para a população adulta, que possui suas particularidades. Ademais, devemos ter o cuidado para não realizar generalizações em relação à USQ, pois diferentes dispositivos não podem e não devem ser comparados.

7 ANEXOS

Anexo 1: PROTOCOLO PARA AVALIAÇÃO DA SAÚDE ÓSSEA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DEFICIÊNCIA DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO E CONTROLES

I. IDENTIFICAÇÃO

Data ___/___/___
 Número _____
 1. Paciente 2. Controle
Registro SAME _____

Nome: _____
 Mãe: _____
 Pai: _____
 Sexo: 1. Masculino 2. Feminino
 Data Nascimento: ___/___/___
 Idade Atual: ___ anos ___ meses
 Cor: 1. Branca 2. Parda (morena) 3. Negra 4. Amarela
 Naturalidade: _____
 Endereço: _____
 Cidade: _____ Estado: _____
 Telefones: (____) _____
 e-mail _____

II. HMA

1) PACIENTES:

(DADOS RELACIONADOS À DEFICIÊNCIA DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO)

Causa da doença: 1. Congênita 2. Orgânica. Se orgânica, qual? _____
 Hipopituitarismo? 1. Sim 2. Não
 Se sim, quais deficiências hormonais? _____
 Hipotireoidismo 1. Sim 2. Não
 Hipogonadismo? 1. Sim 2. Não 3. Não se aplica
 Hipocortisolismo? 1. Sim 2. Não
 Diabetes insipidus? 1. Sim 2. Não
 Usa outros medicamentos ou vitaminas?: 1. Sim 2. Não Se sim, Quais? _____
 Idade ao diagnóstico da DGH _____
 Tratamento com GH: 1. Sim 2. Não
 Idade ao início do GH: _____ Tempo de uso: _____
 Dose semanal _____ UI/Kg/sem (apresentação _____)
 Uso regular? _____

2) CONTROLES:

Tem algum problema de saúde? 1. Sim 2. Não. Se sim, qual _____
 Usa algum medicamento/vitamina? 1. Sim 2. Não. Se sim, qual? _____ Tempo de uso _____

III: HISTÓRIA PREGRESSA

Parto: 1. Pré-termo 2. Termo 3. Pós-termo (Idade gestacional _____)
 Peso ao nascimento: _____ Comprimento ao nascimento: _____
 História de fratura? 1. Sim 2. Não. Se sim, quantas vezes? _____ Qual(is) _____
 osso(s)? _____ Trauma de baixo impacto? 1. Sim 2. Não
 Já teve algum problema de saúde? 1. Sim 2. Não. Se sim, qual? _____
 Usou algum medicamento? 1. Sim 2. Não. Se sim, qual? _____ Tempo de uso _____
 Usou corticoides (oral ou inalatório)? 1. Sim 2. Não.
 Se sim, qual? _____ Tempo de uso _____ Dose _____

IV. HISTÓRIA FAMILIAR

Pais consanguíneos? 1. Sim 2. Não
 História familiar de deficiência de hormônio do crescimento? 1. Sim 2. Não
 História familiar de problemas ósseos? 1. Sim 2. Não Se sim, qual? _____

Anexo 2: Questionário para classificação socioeconômica

Posse de itens

	Quantidade de Itens				
	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	4	5	6	7
Automóvel	0	4	7	9	9
Empregada mensalista	0	3	4	4	4
Máquina de lavar	0	2	2	2	2
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0	2	2	2	2

Grau de Instrução do chefe de família

Nomenclatura Antiga	Nomenclatura Atual	
Analfabeto/ Primário incompleto	Analfabeto/ Fundamental 1 Incompleto	0
Primário completo/ Ginásial incompleto	Fundamental 1 Completo / Fundamental 2 Incompleto	1
Ginásial completo/ Colegial incompleto	Fundamental 2 Completo/ Médio Incompleto	2
Colegial completo/ Superior incompleto	Médio Completo/ Superior Incompleto	4
Superior completo	Superior Completo	8

CORTES DO CRITÉRIO BRASIL

Classe	Pontos
A1	42 - 46
A2	35 - 41
B1	29 - 34
B2	23 - 28
C1	18 - 22
C2	14 - 17
D	8 - 13
E	0 - 7

ALIMENTOS E BEBIDAS				CONSUMO			
FRUTAS	☺	☹	☹	Dia	Semana	Mensal	Med.cas
Frutas frescas							
Abacaxi							
Abacate							
Açaí (polpa)							
Ameixa							
Amora							
Banana							
Cajá							
Caju							
Caqui							
Carambola							
Cereja							
Damasco							
Figo							
Fruta do conde							
Goiaba							
Graviola							
Jabuticaba							
Kiwi							
Jaca							
Jambo							
Laranja							
Lima							
Maçã							
Manga							
Mamão							
Maracujá							
Marmelo							
Melancia							
Melão							
Morango							
Romã							
Tangerina							
Uva							
Frutas secas e oleaginosas							
Amêndoa							
Azeitona							
Avelã							
Amendoim							
Castanha							
Côco							
Nozes							
Uva passa							

ALIMENTOS E BEBIDAS				CONSUMO			
Doce/Sobremesa	☺	☹	☹	Dia	Semana	Mens	Med.cas
Achocolatado							
Açúcar							
Balas							
Barras de cereal							
Bombom caseiro							
Chocolate ao leite							
Chocolate ao leite diet							
Doce de fruta em barra							
Doce de fruta em calda							
Doce de leite							
Rapadura							
Sorvetes diversos							
Sorvetes diversos Light							
Sundae							
Gelatina							
Gelatina Light							
Pavê							
Torta doce							
Bebidas							
Água Mineral							
Café com açúcar							
Café sem açúcar							
Chá com açúcar							
chá sem açúcar							
Suco natural							
Suco de garrafa							
Suco em pó							
Suco em pó light							
Refrigerante comum							
Refrigerante diet/light							
Cerveja							
Cachaça							
Vinho seco							
Vinho suave							
Whisky							
outras bebidas							
Alimentos normalmente consumidos, não incluídos no questionário							
Feijoadá							
Canjica							
Canjiquinha							
Fubá suado							
sopa de legumes							
sopa de legumes com macarrão							
Canja de galinha							
Arroz com pequi							

REGISTRO ALIMENTAR

NOME:

Data:

DESJEJUM :

Alimento	Quantidade	Horário

LANCHE MANHÃ:

ALMOÇO:

Alimento	Quantidade	Horário

LANCHE DA TARDE:

Alimento	Quantidade	Horário

JANTAR:

Alimento	Quantidade	Horário

CEIA:

Alimento	Quantidade	Horário

Anexo 4: Questionário para avaliar os hábitos de exposição ao sol

- 1) Em média, quanto tempo por dia você/o seu filho fica ao ar livre (lugar onde bate sol) durante a semana? (de segunda a sexta-feira)

o zero
 o 30 minutos ou menos
 o 31 minutos a 1 hora
 o 2 horas
 o 3 horas
 o 4 horas
 o 5 horas
 o 6 horas ou mais

- 2) Em média, quanto tempo por dia você/o seu filho fica ao ar livre (lugar onde bate sol) durante o fim de semana? (sábado e domingo).

o zero
 o 30 minutos ou menos
 o 31 minutos a 1 hora
 o 2 horas
 o 3 horas
 o 4 horas
 o 5 horas
 o 6 horas ou mais

Para as seguintes perguntas, pense sobre o que você/o seu filho faz quando sai ao ar livre em um dia quente e ensolarado:

- 3) Com que frequência você/seu filho usa **PROTETOR SOLAR**?

o nunca o raramente o algumas vezes o frequentemente o sempre

- 4) Com que frequência você/seu filho usa **CAMISETA** (com mangas que cobrem os ombros)?

o nunca o raramente o algumas vezes o frequentemente o sempre

- 5) Com que frequência você/seu filho usa **CHAPÉU OU BONÉ**?

o nunca o raramente o algumas vezes o frequentemente o sempre

- 6) Com que frequência você/seu filho fica na **SOMBRA** ou **DEBAIXO DE UMA SOMBRINHA/GUARDA-SOL**?

o nunca o raramente o algumas vezes o frequentemente o sempre

CONCLUSÃO:

Tempo de exposição à luz solar: _____h/sem

Adota medidas de proteção solar? 1.sim 2. não

Anexo 5: Questionário para avaliar a prática de atividade física

Questionário sobre Atividade Física regular - PAQ-C

Gostaria de saber que tipos de atividade física você praticou **NOS ÚLTIMOS SETE DIAS** (nessa última semana). Essas atividades incluem esporte e dança que façam você suar ou que façam você sentir suas pernas cansadas, ou ainda jogos (tais como pique), saltos, corridas e outros, que façam você se sentir ofegante.

LEMBRE-SE:

- A. Não existe certo ou errado – este questionário não é um teste.
- B. Por favor, responda todas as questões de forma sincera e precisa – é muito importante para o resultado.

1. Você fez alguma atividade Física NOS ÚLTIMOS SETE DIAS (na semana passada)? Se sim, quantas vezes?

Marque apenas um x por tipo de atividade

Tipo de atividade	Nenhum a vez	1-2 vezes	3-4 vezes	5-6 vezes	7 vezes ou mais
01.Saltos	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
02.Atividade no parque ou playground	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
03.Pique	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
04.Caminhada	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
05.Andar de bicicleta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
06.Correr ou trotar	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
07.Ginástica aeróbica	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
08.Natação	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
09.Dança	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
10.Andar de skate	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
11.Futebol	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
12.Voleibol	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
13.Basquete	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
14.“Queimado”	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
15.Outros (liste no espaço)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

2. Nos últimos 7 dias, durante as aulas de Educação Física, o quanto você foi ativo (jogou intensamente, correu, saltou e arremessou)?

Marque apenas uma das alternativas

- Eu não faço as aulas
- Raramente
- Algumas vezes
- Freqüentemente
- Sempre

3. Nos últimos 7 dias, o que você fez na maior parte do intervalo de aula?

Marque apenas uma das alternativas

- Ficou sentado (conversando, lendo, ou fazendo trabalho de casa) O
 Ficou em pé, parado ou andou O
 Correu ou jogou um pouco O
 Correu ou jogou um bocado O
 Correu ou jogou intensamente a maior parte do tempo O

4. Nos últimos 7 dias, o que você fez normalmente durante o horário de almoço (além de almoçar)?

Marque apenas uma das alternativas

- Ficou sentado (conversando, lendo, ou fazendo trabalho de casa) O
 Ficou em pé, parado ou andou O
 Correu ou jogou um pouco O
 Correu ou jogou um bocado O
 Correu ou jogou intensamente a maior parte do tempo O

5. Nos últimos 7 dias, quantos dias da semana você praticou algum esporte, dança ou jogos em que você foi muito ativo, LOGO DEPOIS DA ESCOLA?

Marque apenas uma das alternativas

- Nenhum dia O
 1 vez na semana passada O
 2 ou 3 vezes na semana passada O
 4 vezes na semana passada O
 5 vezes na semana passada O

6. Nos últimos 7 dias, quantas vezes você praticou algum esporte, dança ou jogos em que você foi muito ativo, A NOITE?

Marque apenas uma das alternativas

- Nenhum dia O
 1 vez na semana passada O
 2 – 3 vezes na semana passada O
 4 – 5 vezes na semana passada O
 6 – 7 vezes na semana passada O

7. NO ÚLTIMO FINAL DE SEMANA, quantas vezes você praticou algum esporte, dança ou jogos em que você foi muito ativo?

- Nenhum dia O
 1 vez O
 2 – 3 vezes O
 4 – 5 vezes O
 6 ou mais vezes O

8. Em média quantas horas você assiste televisão por dia? _____ horas.

9. Qual das opções abaixo melhor representa você nos últimos 7 dias?

LEIA TODAS AS 5 AFIRMATIVAS ANTES DE DECIDIR QUAL É A MELHOR OPÇÃO

Todo, ou quase todo, o meu tempo livre eu utilizei fazendo coisas que envolvem pouco esforço físico (assistir TV, fazer trabalho de casa, jogar vídeo games)O

Eu pratiquei alguma atividade física (1-2 vezes na última semana) durante o meu tempo livre (Ex: Praticou esporte, correu, nadou, andou de bicicleta, fez ginástica aeróbica)O

Eu pratiquei atividade física no meu tempo livre (3-4 vezes na semana passada).....O

Eu geralmente pratico atividade física no meu tempo livre (5-6 vezes na semana passadaO

Eu pratiquei atividade física regularmente no meu tempo livre na semana passada (7 ou mais vezes)O

10. Comparando você com outras pessoas da mesma idade e sexo, como você se considera?

Marque apenas uma das alternativas

Muito mais em forma..... O

Mais em forma..... O

Igualmente em forma..... O

Menos em forma..... O

Completamente fora de forma..... O

11. Você teve algum problema de saúde na semana passada que impediu que você fosse normalmente ativo?

Sim..... O

Não..... O

Se sim, o que impediu você de ser normalmente ativo? _____

12. Comparando você com outras pessoas da mesma idade e sexo, como você se classifica em função da sua atividade física nos últimos 7 dias?

Marque apenas uma das alternativas

Eu fui muito menos ativo que os outros..... O

Eu fui um pouco menos ativo que os outros.....O

Eu fui igualmente ativo.....O

Eu fui um pouco mais ativo que os outros.....O

Eu fui muito mais ativo que os outros.....O

13. Marque a frequência em que você praticou atividade física (esporte, jogos, dança ou outra atividade física) na semana passada.

Marque apenas uma das alternativas em cada dia da semana

	Nenhuma vez	Algumas vezes	Poucas vezes	Diversas vezes	Muitas vezes
SEGUNDA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
TERÇA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
QUARTA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
QUINTA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
SEXTA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
SÁBADO	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
DOMINGO	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Anexo 6: Curvas NHANES, 2008: CMO CTsc para altura e idade, em ambos os gêneros

Dados retirados do software APEX 3.3 do aparelho de DXA modelo *Discovery W* da marca *Hologic Inc.*

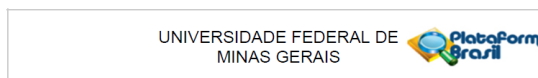
Altura MENINAS	CMO CTsc	D.P.	L
120	526,7712	42,748	0,37
121	540,4353	45,328	0,325
122	553,9386	47,968	0,28
123	567,1247	50,651	0,235
124	580,0342	53,376	0,191
125	592,8697	56,153	0,147
126	605,8994	58,999	0,103
127	619,3583	61,928	0,059
128	633,606	64,963	0,016
129	648,5309	68,086	-0,027
130	663,5609	71,23	-0,068
131	678,64	74,386	-0,108
132	694,0428	77,581	-0,145
133	709,7821	80,83	-0,179
134	725,7751	84,144	-0,209
135	742,186	87,554	-0,236
136	759,2944	91,102	-0,259
137	777,4838	94,84	-0,276
138	797,1377	98,819	-0,289
139	818,4269	103,068	-0,297
140	841,273	107,575	-0,299
141	865,5741	112,304	-0,295
142	891,4191	117,236	-0,284
143	919,1025	122,388	-0,266
144	948,6921	127,74	-0,243
145	980,0483	133,23	-0,215
146	1013,123	138,803	-0,183
147	1047,674	144,393	-0,147
148	1083,317	149,916	-0,107
149	1119,801	155,311	-0,064
150	1156,784	160,521	-0,018
151	1193,766	165,479	0,029
152	1230,271	170,121	0,076
153	1265,84	174,39	0,121
154	1300,064	178,252	0,162
155	1332,759	181,711	0,198
156	1364,047	184,816	0,229
157	1394,176	187,64	0,252
158	1423,48	190,28	0,269
159	1452,375	192,834	0,277
160	1481,203	195,358	0,276
161	1510,326	197,932	0,268
162	1539,934	200,637	0,253
163	1570,117	203,514	0,231
164	1600,706	206,552	0,206
165	1631,594	209,732	0,177
166	1662,789	213,033	0,147
167	1694,24	216,42	0,117
168	1726,033	219,878	0,086
169	1758,307	223,437	0,055
170	1791,15	227,111	0,024
171	1824,606	230,911	-0,007
172	1858,714	234,861	-0,038
173	1893,469	238,976	-0,07
174	1928,853	243,26	-0,102
175	1964,856	247,709	-0,134
176	2001,438	252,32	-0,167
177	2038,543	257,085	-0,2
178	2076,117	262	-0,234
179	2114,109	267,058	-0,267
180	2152,488	272,251	-0,301
181	2191,208	277,567	-0,336
182	2230,222	282,996	-0,37
183	2269,484	288,524	-0,405
184	2308,945	294,139	-0,44
185	2348,557	299,826	-0,475
186	2388,275	305,571	-0,51
187	2428,049	311,359	-0,545
187,2	2436,006	312,52	-0,552

Altura MENINOS	CMO CTsc	D.P.	L
121,1	566,0770	56,852	1,836
122	575,5763	57,698	1,790
123	586,2803	58,649	1,737
124	597,3651	59,637	1,685
125	609,0018	60,684	1,633
126	621,2034	61,804	1,581
127	633,8522	62,993	1,530
128	646,8171	64,249	1,479
129	659,9874	65,569	1,429
130	673,4547	66,970	1,379
131	687,1480	68,456	1,331
132	700,9869	70,030	1,283
133	715,0975	71,714	1,237
134	729,4156	73,512	1,191
135	743,7957	75,418	1,147
136	758,3868	77,456	1,104
137	773,3846	79,652	1,062
138	789,0532	82,028	1,023
139	805,6337	84,609	0,986
140	823,1980	87,404	0,951
141	841,6208	90,410	0,919
142	860,8462	93,640	0,889
143	880,9192	97,122	0,862
144	901,9685	100,888	0,838
145	924,2345	104,979	0,816
146	948,0840	109,445	0,797
147	973,7036	114,315	0,780
148	1001,1460	119,604	0,766
149	1030,3740	125,304	0,753
150	1061,2400	131,391	0,743
151	1093,6280	137,839	0,734
152	1127,5280	144,631	0,727
153	1162,9540	151,751	0,722
154	1199,8010	159,171	0,718
155	1237,9040	166,847	0,715
156	1277,0480	174,723	0,714
157	1316,9640	182,731	0,713
158	1357,3900	190,795	0,713
159	1398,1570	198,846	0,714
160	1439,0620	206,823	0,715
161	1479,9420	214,671	0,716
162	1520,6780	222,341	0,718
163	1561,2150	229,801	0,720
164	1601,5700	237,036	0,722
165	1641,7700	244,036	0,724
166	1681,7530	250,778	0,725
167	1721,4600	257,252	0,724
168	1760,8250	263,467	0,723
169	1799,7730	269,413	0,721
170	1838,3550	275,086	0,719
171	1876,7180	280,487	0,716
172	1915,0060	285,614	0,714
173	1953,3030	290,465	0,711
174	1991,7080	295,069	0,709
175	2030,2790	299,476	0,707
176	2069,0430	303,729	0,705
177	2108,0580	307,869	0,703
178	2147,3830	311,926	0,700
179	2187,0450	315,923	0,696
180	2227,0470	319,886	0,692
181	2267,3930	323,837	0,687
182	2308,0730	327,788	0,681
183	2349,0750	331,747	0,675
184	2390,3770	335,718	0,668
185	2431,9460	339,695	0,661
186	2473,7410	343,662	0,653
187	2515,7120	347,603	0,646
188	2557,8210	351,507	0,638
189	2600,0320	355,366	0,630
190	2642,3090	359,170	0,622
191	2684,6150	362,912	0,615
192	2726,9310	366,589	0,607
192,5	2748,0910	368,405	0,603

Idade MENINAS	CMO CTsc	D.P.	L
8	569,2166	99,975	-0,044
9	690,7777	120,804	-0,055
10	828,9326	144,335	-0,067
11	987,9702	171,258	-0,08
12	1147,121	197,91	-0,094
13	1281,206	219,916	-0,108
14	1376,9	235,036	-0,124
15	1436,231	243,718	-0,141
16	1472,821	248,38	-0,158
17	1498,622	251,114	-0,176
18	1515,059	252,199	-0,194
19	1517,699	250,939	-0,0211
20	1511,001	248,272	-0,277

Idade MENINOS	CMO CTsc	D.P.	L
8	638,9025	122,188	-0,5
9	726,9958	139,402	-0,011
10	821,5312	157,93	0,029
11	943,7379	181,836	0,069
12	1099,012	212,122	0,11
13	1285,773	248,416	0,15
14	1488,94	287,728	0,19
15	1680,706	324,636	0,228
16	1836,427	354,377	0,265
17	1940,503	373,983	0,301
18	1993,67	383,671	0,336
19	2014,024	387,004	0,371
20	2024,122	388,408	0,403

Anexo 7: Parecer do COEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA SAÚDE ÓSSEA DE CRIANÇAS COM DEFICIÊNCIA DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO PELA ULTRASSONOGRAFIA ÓSSEA QUANTITATIVA E SUA RELAÇÃO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D.

Pesquisador: Ivani Novato Silva

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 05909312.7.0000.5149

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da UFMG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 327.308

Data da Relatoria: 02/07/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo clínico, longitudinal, prospectivo e controlado. As crianças com DGH e os contras serão submetidos à avaliação clinicolaboratorial e comparados no início do estudo em relação aos seguintes parâmetros:

-Peso, altura, IMC e estágio puberal (comparados aos dados da OMS)

-Idade óssea (pelo método de Greulich and Pyle)

-Ultrassom ósseo quantitativo

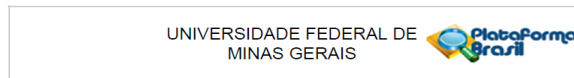
-Dosagens de IGF1, cálcio, fósforo, magnésio, fosfatase alcalina, PTH, 25OH vitamina D e osteocalcina (marcador de formação óssea) no sangue

-Dosagens de cálcio, creatinina e telopeptídeo N-terminal do colágeno tipo 1 (marcador de reabsorção óssea) em amostra única de urina.

Serão investigados os hábitos de vida das crianças, por meio de questionários aplicados na consulta. Inicialmente a ingestão média diária de cálcio será calculada utilizando-se o software DietPro, após aplicação de questionário quantitativo de frequência alimentar validado. A classificação donível de atividade física será realizada após aplicação do questionário internacional de atividade física (IPAQ). A exposição à luz será avaliada por questionário elaborado pelos próprios pesquisadores. A cor da pele será registrada logo após diagnóstico, tempo de tratamento, reposição

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
UF: MG Município: BELO HORIZONTE E-mail: coep@prpq.ufmg.br
Telefone: (31)3409-4592

Página 01



Continuação do Parecer: 327.308

de outras deficiências hormonais hipofisárias e a causa da doença serão obtidos dos prontuários médicos. Todas as crianças serão orientadas para a manutenção de aporte adequado de cálcio. As crianças com DGH detectadas com deficiência de vitamina D receberão suplementação oral da vitamina. As crianças deficientes em vitamina D do grupo controle serão excluídas do estudo e serão encaminhadas para acompanhamento adequado.

O Ultrassom ósseo quantitativo será realizado sempre pelo mesmo observador na Clínica CEU Diagnósticos utilizando-se o aparelho DBM Sonic Bone Profiler, Model BP01, IGEA Clinical Biophysics, Carpi, Modena, Itália. Os parâmetros que medem a densidade mineral óssea serão avaliados segundo o protocolo padrão do fabricante, na metáfise distal das falanges proximais da mão não dominante, nos dedos de II a V. O sistema de medida deste equipamento é constituído de um compasso que acopla dois transdutores de 12 mm de diâmetro cada, um emissor e outro receptor, com alta precisão, de cerca de 0,02 milímetros. Estes transdutores serão posicionados na superfície lateral de cada dedo, emitindo ondas sonoras de 1,25 MHz, que rastrearão as trabéculas ósseas. O equipamento fará automaticamente as medidas de velocidade, amplitude e tempo de transmissão das ondas sonoras pelo osso. Os parâmetros ADSoS (amplitude-dependent speed of sound) e BTT (bone transmission time) serão fornecidos a partir da média de 96 aquisições dos quatro dedos. Estes parâmetros serão correlacionados com a idade, estatura, peso e estágio puberal dos pacientes e serão expressos em percentis.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a saúde óssea de crianças com deficiência de hormônio do crescimento durante o intervalo de um ano de tratamento com o hormônio do crescimento, por meio do ultrassom ósseo quantitativo (USQ) e marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo.

Objetivo Secundário:

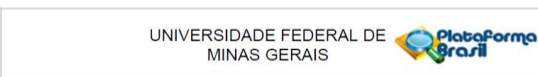
Correlacionar os achados da saúde óssea dessas crianças com as características clínicas, laboratoriais e terapêuticas: dados antropométricos, a velocidade de crescimento, os marcadores de reabsorção e formação ósseas e as concentrações séricas de 25OH vitamina D.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Estão previstos e descritos no projeto, bem como sua minimização.

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
UF: MG Município: BELO HORIZONTE E-mail: coep@prpq.ufmg.br
Telefone: (31)3409-4592

Página 02 de 04



Continuação do Parecer: 327.308

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo relevante e metodologia detalhada. Em 26/06/2013 solicitação de adendo ao projeto que pede inclusão do exame de densitometria óssea.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Estão presentes:

-Protocolo de pesquisa (instrumentos de coleta de dados)

-TCLEs segundo faixa etária e grupo pesquisado (controle e caso)

-Registro na DEPE/HC

-Parecer da Câmara Departamental

-Anuência escola

-Anuência da Unidade Funcional responsável no HC/UFMG

- Adendo ao projeto que pede a inclusão do exame de densitometria óssea.

Recomendações:

O projeto de pesquisa em questão AVALIAÇÃO DA SAÚDE ÓSSEA DE CRIANÇAS COM DEFICIÊNCIA DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO PELA ULTRASSONOGRAFIA ÓSSEA QUANTITATIVA E SUA RELAÇÃO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D solicita inclusão do exame de densitometria óssea

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos pela aprovação do adendo ao projeto "AVALIAÇÃO DA SAÚDE ÓSSEA DE CRIANÇAS COM DEFICIÊNCIA DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO PELA ULTRASSONOGRAFIA ÓSSEA QUANTITATIVA E SUA RELAÇÃO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D" da pesquisadora Ivani Novato Silva

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado o adendo conforme parecer.

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
UF: MG Município: BELO HORIZONTE E-mail: coep@prpq.ufmg.br
Telefone: (31)3409-4592

Página 03 de 04



Continuação do Parecer: 327.308

BELO HORIZONTE, 05 de Julho de 2013

Assinado por:
Maria Teresa Marques Amaral
(Coordenador)

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
UF: MG Município: BELO HORIZONTE E-mail: coep@prpq.ufmg.br
Telefone: (31)3409-4592

Página 04 de 04

Anexo 8: TERMOS DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO SEGUNDO ARTIGO IV DA RESOLUÇÃO NÚMERO 196 DO CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE DE 10 DE OUTUBRO DE 1996. Os modelos apresentados são para pacientes e controles de 7 a 12 anos. Os termos para as outras faixas etárias sofreram mínimas modificações.

A) Informações aos pacientes

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa que estamos realizando para aumentar o conhecimento sobre a saúde óssea de crianças e adolescentes com deficiência de hormônio do crescimento.

Atualmente, estão sendo publicadas pesquisas científicas que demonstram que pacientes com esta doença podem apresentar alterações ósseas. A pesquisa que estamos realizando tem o objetivo de esclarecer melhor o desenvolvimento e evolução dessas alterações e se elas já estão presentes em você. Se você concordar em participar, será realizada uma consulta médica e uma única coleta de sangue no início da pesquisa para a realização de alguns exames laboratoriais, como os que você já realiza habitualmente para o seu controle. Os riscos relacionados à coleta de sangue são baixos e incluem: desconforto ou dor mínima durante o procedimento, formação de equimose (mancha roxa) transitória, inchaço e infecção locais e flebite (inflamação da veia). Será realizada também uma ultrassonografia óssea nos dedos das mãos e o exame de densitometria para avaliação das características do osso. A consulta médica e os exames serão previamente agendados com você.

A detecção precoce de alguma alteração nos exames clínicos, laboratoriais ou radiológicos permite a tomada de medidas de prevenção e em alguns casos de tratamento de problemas com a saúde do osso e com os níveis de vitamina D no sangue. Se alguma alteração for detectada você será orientado (a) para o seu tratamento e controle.

Caso você não queira participar, continuará a receber toda a atenção e o tratamento a que você já está acostumado (a). Você poderá, também, desistir de participar a qualquer momento e isso não lhe causará nenhum problema.

B) Declaração de termo de consentimento pós-informação.

Declaro que fui suficientemente informado (a) a respeito dos objetivos da pesquisa e da natureza, riscos e benefícios dos exames citados.

Concordo em participar da pesquisa e consinto que seja feita a consulta médica, a coleta de sangue para realização dos exames laboratoriais e radiológicos.

Declaro ainda, concordar com a minha participação nesta pesquisa, não tendo recebido nenhum tipo de pressão para que isso ocorresse.

Por outro lado, estou ciente de que poderei impedir o prosseguimento da mesma, se tiver dúvidas sobre os esclarecimentos que me forem dados, sem prejuízo para o meu acompanhamento pela equipe médica.

Recebi as informações sobre a pesquisa e, depois de ter tirado todas as dúvidas, dou permissão para o exame clínico, laboratorial, ultrassonográfico e densitométrico.

Assinaturas:

Pai: _____

Mãe: _____

Paciente: _____

Local e Data: Belo Horizonte, _____ de _____ de 20 _____

Pesquisadoras responsáveis:

Dra Isabela Leite Pezzuti

Tel: (31) 3224-0681 ou (31) 9197-0570- Disponível para ligações a cobrar

Dra Ivani Novato Silva

Tel (31) 34099773

Comitê de Ética em Pesquisa (COEP): Avenida Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II – 2º andar – sala 2005; Campus Pampulha – Belo Horizonte – MG. CEP: 31270-901.

Fone: (31) 34094592.

A) Informações aos pacientes sadios

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa que estamos realizando para aumentar o conhecimento sobre a saúde óssea de crianças e adolescentes com deficiência de hormônio do crescimento.

Atualmente estão sendo publicadas pesquisas científicas que demonstram que pacientes com esta doença podem apresentar alterações ósseas. A pesquisa que estamos realizando tem o objetivo de esclarecer melhor sobre o aparecimento dessas alterações. É importante que sejam realizadas avaliações clínicas, laboratoriais e radiológicas em pessoas sadias para comparação com os pacientes portadores de deficiência de hormônio do crescimento com o objetivo de esclarecer se as alterações encontradas são associadas com a doença. Se você concordar em participar, serão realizadas uma consulta médica e coleta de sangue no início da pesquisa para a realização de alguns exames laboratoriais. Os riscos relacionados à coleta de sangue são baixos e incluem: desconforto ou dor mínima durante o procedimento, formação de equimose (mancha roxa) transitória, inchaço e infecção locais e flebite (inflamação da veia). Será realizada também uma ultrassonografia nos ossos dos dedos das mãos e um exame de densitometria. A consulta médica e os exames serão previamente agendados com você.

A detecção precoce de alguma alteração nos exames clínicos, laboratoriais ou radiológicos permite a tomada de medidas de prevenção e em alguns casos de tratamento de problemas com a saúde do osso e com os níveis de vitamina D no sangue. Se alguma alteração for detectada você será orientado (a) para o seu tratamento e controle.

Caso você não queira participar, continuará a receber toda a atenção a que você já está acostumado (a). Você poderá, também, desistir de participar a qualquer momento e isso não lhe causará nenhum problema.

B) Declaração de termo de consentimento pós-informação.

Declaro que fui suficientemente informado (a) a respeito dos objetivos da pesquisa e da natureza, riscos e benefícios dos exames citados.

Concordo em participar da pesquisa e consinto que seja feita a consulta médica, coleta de sangue para realização dos exames laboratoriais, ultrassonografia dos ossos dos dedos das mãos e densitometria.

Declaro ainda, concordar com a minha participação nesta pesquisa, não tendo recebido nenhum tipo de pressão para que isso ocorresse.

Por outro lado, estou ciente de que poderei impedir o prosseguimento da mesma, se tiver dúvidas sobre os esclarecimentos que me forem dados, sem prejuízo para o meu acompanhamento pela equipe médica.

Recebi as informações sobre a pesquisa e, depois de ter tirado todas as dúvidas, dou permissão para o exame clínico, laboratorial, ultrassonográfico e densitométrico.

Assinaturas:

Pai: _____

Mãe: _____

Paciente: _____

Local e Data: Belo Horizonte, _____ De _____ de 20 _____

Pesquisadoras responsáveis:

Dra Isabela Leite Pezzuti

Tel: (31) 3224-0681 ou (31) 9197-0570- Disponível para ligações a cobrar

Dra Ivani Novato Silva

Tel (31) 34099773

Comitê de Ética em Pesquisa (COEP)

Avenida Antônio Carlos, 6627

Unidade Administrativa II – 2º andar – sala 2005

Campus Pampulha – Belo Horizonte – MG. CEP: 31270-901

Fone: (31) 34094592

Anexo 9: Caracterização do grupo DGH

Etiologia do hipopituitarismo e número de deficiências hormonais entre os pacientes do estudo

ETIOLOGIA DO HIPOPITUITARISMO	DEFICIÊNCIAS HORMONAIS					
	DGH isolada (n=8)	Hipopituitarismo (n=28)				
		GH	TSH	ACTH	LH/FSH	ADH
Congênita (n=31)						
Agenesia ou hipoplasia da hipófise e neuro-hipófise ectópica	8	23	22	17	3	0
Adquirida (n=5)						
Craniofaringeoma	0	3	3	3	3	3
Meduloblastoma	0	1	1	0	0	0
Adenoma	0	1	0	1	1	0

DGH: deficiência de hormônio do crescimento; GH: hormônio do crescimento; TSH: hormônio tireotrófico; ACTH: hormônio corticotrófico; LH: hormônio luteinizante; FSH: hormônio foliculo estimulante; ADH: hormônio anti-diurético.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

UFMG

ATA DA DEFESA DE TESE DA ALUNA ISABELA LEITE PEZZUTI

Realizou-se, no dia 13 de janeiro de 2015, às 13:00 horas, na sala 062, andar térreo da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese, intitulada "AVALIAÇÃO LABORATORIAL E POR IMAGEM DA SAÚDE ÓSSEA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DEFICIÊNCIA DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO EM TRATAMENTO", apresentada por ISABELA LEITE PEZZUTI, número de registro 2012655240, graduado no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde - Saúde da Criança e do Adolescente, à seguinte Comissão Examinadora formada pelos professores doutores: Ivani Novato Silva - Orientadora (UFMG), Ana Lúcia Pimenta Starling (UFMG), Luana Caroline dos Santos (UFMG), Gil Guerra Júnior (UNICAMP) e Waldemar Naves do Amaral (UFG).


A Comissão considerou a tese:

Aprovada


Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

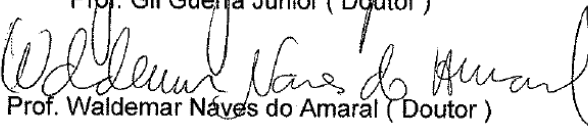
Belo Horizonte, 13 de janeiro de 2015.


Prof^a. Ivani Novato Silva (Doutora)


Prof^a. Ana Lúcia Pimenta Starling (Doutora)


Prof^a. Luana Caroline dos Santos (Doutor)


Prof. Gil Guerra Júnior (Doutor)


Prof. Waldemar Naves do Amaral (Doutor)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

UFMG

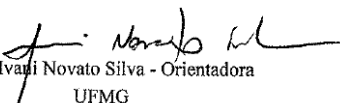
FOLHA DE APROVAÇÃO

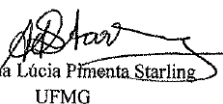
AVALIAÇÃO LABORATORIAL E POR IMAGEM DA SAÚDE ÓSSEA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DEFICIÊNCIA DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO EM TRATAMENTO


ISABELA LEITE PEZZUTI

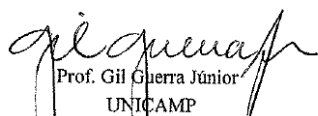
Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Saúde da Criança e do Adolescente, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde - Saúde da Criança e do Adolescente, área de concentração Ciências da Saúde.


Aprovada em 13 de janeiro de 2015, pela banca constituída pelos membros:


Prof. Ivani Novato Silva - Orientadora
UFMG


Prof. Ana Lúcia Pimenta Starling
UFMG


Prof. Luana Caroline dos Santos
UFMG


Prof. Gil Guerra Júnior
UNICAMP


Prof. Waldemar Naves do Amaral
UFFG

Belo Horizonte, 13 de janeiro de 2015.