

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Faculdade de Medicina**

**Paula Valladares Guerra Resende**

**AVALIAÇÃO OSTEOSSONOGRÁFICA DA  
DENSIDADE MINERAL DE CRIANÇAS E  
ADOLESCENTES COM DOENÇA CELÍACA**

**Belo Horizonte**

**2014**

**Paula Valladares Guerra Resende**

**AVALIAÇÃO OSTEOSSONOGRÁFICA DA  
DENSIDADE MINERAL DE CRIANÇAS E  
ADOLESCENTES COM DOENÇA CELÍACA**

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.

Orientador: Prof. Francisco José Penna

**Belo Horizonte**

**2014**

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Reitor:** Prof. Jaime Arturo Ramírez

**Vice-Reitora:** Prof<sup>a</sup> Sandra Regina Goulart Almeida

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

**Pró-Reitora de Pesquisa:** Prof<sup>a</sup> Adelina Martha dos Reis

## **FACULDADE DE MEDICINA**

**Diretor:** Prof. Tarcizo Afonso Nunes.

**Vice-Diretor:** Prof. Humberto José Alves

**Coordenadora do Centro de Pós-Graduação:**

Prof<sup>a</sup> Sandhi Maria Barreto

**Subcoordenadora do Centro de Pós-Graduação:**

Prof<sup>a</sup> Ana Cristina Côrtes Gama

**Chefe do Departamento de Pediatria:**

Prof<sup>a</sup> Claudia Regina Lindgren Alves

## **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente**

**Coordenadora:** Prof<sup>a</sup> Ana Cristina Simões e Silva

**Subcoordenador:** Prof. Eduardo Araújo Oliveira

Ao Rodrigo,  
Que mais uma vez acreditou, apoiou e que dá sentido a tudo que faço.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Francisco José Penna e à Prof<sup>a</sup> Marcia Fantoni por todo ensinamento e incentivo.

À Prof<sup>a</sup> Magda, por me ensinar muito além dos artigos.

À equipe de Gastroenterologia Pediátrica, por todo apoio e incentivo.

À Dr<sup>a</sup> Tereza Filgueiras, à Luiza e toda equipe do CEU.

À Equipe do Laboratório de Neurociências da Faculdade de Medicina, em especial, à Prof<sup>a</sup> Débora e à Dani.

À Equipe do Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica da Faculdade de Medicina, em especial, à Prof<sup>a</sup> Ana Cristina e à Érika.

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

Às alunas Aline, Andréia e Thaisa, pela participação na pesquisa.

Às crianças e pais que carinhosamente participaram da pesquisa.

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

À minha família, por tudo que superamos juntos.

À minha mãe e avó, pelas presenças mesmo nas ausências.

Ao Rodrigo, em especial, novamente responsável para que tudo desse certo. Pelo amor, paciência, companheirismo e ajuda incondicional. Razão de tudo. Nós conseguimos. Amo-te hoje e sempre.

## NOTA EXPLICATIVA

A presente tese segue as orientações do Centro de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e será apresentada em três partes, sob a forma de três artigos científicos.

A primeira parte refere-se ao artigo de revisão e seguirá as normas da Revista Médica de Minas Gerais (<http://rmmg.medicina.ufmg.br/index.php/rmmg/about/submissions#authorGuidelines>), de conformidade com os “Requerimentos do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas” (*International Committee of Medical Journal Editors – ICMJE*) (Estilo Vancouver) disponível em: <http://www.icmje.org/>.

O segundo e terceiro artigo são originais e serão submetidos ao periódico *World Journal of Gastroenterology*. As normas de publicação deste periódico encontram-se no endereço eletrônico: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/InstructionstoAuthprs.asp>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DC	Doença celíaca
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen</i>
PTH	Paratormônio
IL	Interleucina
RANK	<i>Receptor Activated Nuclear Factor Kappa <math>\beta</math></i>
RANKL	<i>Receptor Activated Nuclear Factor Kappa <math>\beta</math> Ligand</i>
OPG	Osteoprotegerina
DP	Desvio padrão
IGF-1	<i>Insulin-like Growth Factor-1</i>
IMC	Índice de massa corporal
GH	<i>Growth Hormone</i>
TNF $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
DXA	<i>Dual Energy X-ray Absorptiometry</i>
QSU	<i>Quantitative Ultrasound Method</i>
HC	Hospital das Clínicas
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
RDA	<i>Recommended Dietary Allowance</i>
IPAQ	<i>Internacional Physical Activity Questionnaire</i>
ADSoS	<i>Amplitude-Dependent Speed of Sound</i>
BTT	<i>Bone Transmission Time</i>
IQR	<i>Interquartile Range</i>
LSD	<i>Least Significance Difference</i>
OPN	Osteopontina
FGF-23	<i>Fibroblast Growth Factor- 23</i>
SIBLING	<i>Small Integrin-Binding N-Linked Glycoprotein</i>

## LISTA DE TABELAS

### Artigo 2

Tabela 1 – Comparação das variáveis demográficas e antropométricas entre os grupos controle e DC em tratamento.....	52
Tabela 2 – Comparação das variáveis demográficas e antropométricas entre os grupos controle, DC sem tratamento e DC em tratamento.....	53
Tabela 3 – Comparação das variáveis: ingestão alimentar, atividade física, exposição solar e medidas de proteção entre os grupos controle e DC em tratamento.....	54
Tabela 4 – Comparação das variáveis: ingestão alimentar, atividade física, exposição solar e medidas de proteção entre os grupos controle, DC sem tratamento e DC em tratamento.....	55
Tabela 5 – Comparação das variáveis laboratoriais entre os grupos controle e DC em tratamento.....	56
Tabela 6 – Comparação das variáveis laboratoriais entre os grupos controle, DC sem tratamento e DC em tratamento.....	57
Tabela 7 – Resultados da comparação das variáveis da osteossonografia entre os grupos controle e DC em tratamento.....	58
Tabela 8 – Resultados da comparação das variáveis da osteossonografia entre os grupos controle, DC sem tratamento e DC em tratamento.....	58
Tabela 9 - Correlações entre as variáveis da osteossonografia e o tempo de diagnóstico da DC.....	59



Tabela 10- Correlações entre as variáveis da osteossomografia e o tempo de dieta isenta de glúten para o grupo DC em tratamento.....	59
--	----

### **Artigo 3**

Tabela 1 – Resultados da comparação das variáveis demográficas e antropométricas.....	85
---	----

Tabela 2 – Resultados da comparação das variáveis: ingestão alimentar, atividade física, exposição solar e medidas de proteção.....	86
---	----

Tabela 3 – Resultados da comparação das variáveis laboratoriais.....	87
--	----

Tabela 4 – Resultados da comparação das variáveis das proteínas do metabolismo ósseo.....	87
---	----

## SUMÁRIO

1 ARTIGO DE REVISÃO – A densidade mineral do osso da criança na doença celíaca .....	13
1. Introdução.....	16
2. Doença celíaca: conceito, epidemiologia e fisiopatologia.....	17
3. O osso normal.....	18
4. Osteopatia.....	19
4.1 Conceito, importância e epidemiologia.....	19
4.2 Fisiopatologia.....	20
4.2.1 Cálcio, vitamina D e paratormônio.....	20
4.2.2 Deficiências nutricionais.....	22
4.2.3 Fator de crescimento insulina símile.....	23
4.2.4 Leptina.....	24
4.2.5 Outros hormônios.....	24
4.2.6 Inflamação local e sistêmica.....	24
4.2.7 RANK/RANKL/OPG.....	26
4.2.8 Disbiose intestinal.....	27
4.2.9 Genética.....	27
5. Fatores de risco.....	29
6. Manifestações clínicas.....	29
7. Avaliação da osteopatia na DC.....	30
7.1 Propedêutica laboratorial.....	30
7.2 Densitometria e osteossonografia.....	31
8. Tratamento.....	33
8.1 Recomendações gerais.....	33
8.2 Suplementação de cálcio e vitamina D.....	33
8.3 Dieta isenta de glúten.....	34
8.4 Tratamentos para osteoporose.....	36
9. Conclusão.....	36
Referências bibliográficas.....	38

2 ARTIGO ORIGINAL- Avaliação osteossonográfica da densidade mineral de crianças e adolescentes com doença celíaca.....	43
2.1 Introdução.....	46
2.2 Métodos.....	47
2.2.1 Seleção da amostra.....	47
2.2.2 Protocolo.....	48
2.2.3 Avaliação laboratorial.....	48
2.2.4 Avaliação clínica, nutricional, atividade física e exposição solar.....	48
2.2.5 Osteossonografia das falanges.....	49
2.2.6 Análise estatística.....	50
2.2.7 Aspectos éticos.....	51
2.3 Descrição da amostra.....	52
2.4 Resultados da osteossonografia.....	58
2.5 Discussão.....	59
2.6 Conclusão.....	68
Referências bibliográficas.....	69
3 ARTIGO ORIGINAL- Marcadores do <i>turnover</i> ósseo em crianças e adolescentes com doença celíaca.....	75
3.1 Introdução.....	78
3.2 Métodos.....	79
3.2.1 Seleção da amostra.....	79
3.2.2 Protocolo.....	80
3.2.3 Avaliação laboratorial.....	80
3.2.4 Avaliação clínica, nutricional, atividade física, exposição solar e osteossonografia.....	82
3.2.5 Análise estatística.....	83
3.2.6 Aspectos éticos.....	84
3.3 Resultados.....	84
3.4 Discussão.....	88
3.5 Conclusão.....	93

Referências bibliográficas.....	94
Anexo 1.....	98
Anexo 2.....	101
Ata de defesa.....	103
Folha de defesa.....	104

**1 ARTIGO DE REVISÃO**

**A DENSIDADE MINERAL DO OSSO DA CRIANÇA  
NA DOENÇA CELÍACA**

## A DENSIDADE MINERAL DO OSSO DA CRIANÇA NA DOENÇA CELÍACA

### Resumo

**Objetivo:** A doença celíaca é uma enteropatia caracterizada pela intolerância permanente ao glúten que pode cursar, além de outras manifestações clínicas, com alterações da densidade mineral óssea, podendo acometer até 75% dos pacientes. Os mecanismos envolvidos relacionam-se com a má absorção de nutrientes e inflamação. Ainda existem dúvidas sobre como conduzir a osteopatia e se a dieta isenta de glúten é capaz de normalizar a massa óssea, inclusive na faixa etária pediátrica.

**Métodos:** Foi realizada revisão não sistematizada da literatura médica internacional nos sites do *Pubmed* e *Medline*. Utilizaram-se os seguintes descritores: *bone, celiac*.

**Resultados:** Diversos fatores estão envolvidos na fisiopatologia da osteopatia da doença celíaca, sendo eles: má absorção de nutrientes, hiperparatireoidismo, inflamação sistêmica e local, genética e disbiose intestinal. Ainda existem dúvidas na rotina de avaliação na doença celíaca, especialmente nas crianças e adolescentes. A dieta isenta de glúten constitui, até o momento, a melhor terapia, principalmente quando o diagnóstico é feito precocemente e o tratamento é instituído. Porém, nem sempre há normalização da densidade óssea.

**Conclusão:** Não há evidências suficientes da melhor maneira de conduzir a osteopatia da doença celíaca e se a dieta isenta de glúten é suficiente para restabelecer os parâmetros de normalidade óssea. Ainda são necessários estudos, especialmente em pediatria.

**Palavras chaves:** doença celíaca, osteopatia, crianças.

## BONE MINERAL DENSITY IN CHILDREN WITH CELIAC DISEASE

### Abstract

**Objective:** Celiac disease is an enteropathy characterized by permanent intolerance to gluten that may be associated with changes in bone mineral density, besides others clinical manifestations. It can affect up to 75% of patients. The mechanisms involved are related to malabsorption of nutrients and inflammation. There are still questions about how to conduct osteopathy and if gluten-free diet can normalize bone mass even in the pediatric group.

**Methods:** A non systematic review of the international medical literature was carried out through the sites Pubmed and Medline. The used descriptors were: *bone, celiac*.

**Results:** Several factors are involved in the pathophysiology of osteopathy of celiac disease, as follows: nutrient malabsorption, hyperparathyroidism, systemic and local inflammation, genetic and intestinal dysbiosis. There were still doubts in the routine assessment in celiac disease patients especially in children and adolescents. A gluten-free diet is so far the best therapy, especially when the diagnosis is made early and the gluten-free diet is started. But, there is not always standardization of bone mineral density.

**Conclusion:** There is insufficient evidence of the best way to conduct the celiac disease osteopathy and whether a gluten-free diet is sufficient to restore bone healthy. Studies are still needed to clarify these issues especially in pediatric patient.

**Key words:** Celiac disease, osteopathy and children.

## 1. Introdução

A doença celíaca (DC) é uma enteropatia caracterizada pela intolerância permanente ao glúten, fração proteica encontrada no trigo, cevada e centeio. É desencadeada por mecanismos autoimunes nos indivíduos geneticamente predispostos.<sup>1</sup> A reação imune é predominantemente voltada para a mucosa intestinal, entretanto a doença pode manifestar-se com uma variedade de sinais e sintomas, acometendo diversos órgãos e tecidos. Manifestações extra intestinais como a redução da massa óssea e aumento da sua fragilidade devem ser considerados como apresentações atípicas da DC.<sup>2</sup>

O osso é um tecido mineral constituído de uma matriz orgânica de fibras de colágeno dispersa em uma massa inorgânica de minerais - hidroxapatita de cálcio.<sup>3</sup> A maior parte desta massa óssea é adquirida nas primeiras décadas de vida, conseqüentemente, qualquer prejuízo nesta fase acarretará risco aumentado de alterações ósseas futuras.<sup>4,5</sup> A DC pode levar à alterações metabólicas e perda mineral óssea em crianças e adultos devido à inflamação crônica e má absorção de nutrientes.<sup>4,6,7</sup> Estima-se que até 75% dos adultos com DC sem tratamento apresentem alguma alteração da massa óssea. A DC é uma das causas mais frequentes de osteopatia metabólica.<sup>6,8</sup>

Recentemente, com o avanço das técnicas não invasivas, tem sido possível demonstrar a real dimensão das alterações ósseas em pacientes com DC.<sup>6</sup> Porém, ainda não se sabe quando e como a osteopatia deve ser investigada.<sup>5</sup> A dieta isenta de glúten é a melhor terapia disponível para DC, mas apesar de geralmente proporcionar uma melhora da massa óssea, raramente parece normalizá-la.<sup>6</sup> Informações adicionais sobre suplementação nutricional, vitaminas e terapias alternativas são necessárias na condução da osteopatia da DC.<sup>5</sup>

Assim, o objetivo do presente artigo é fazer uma revisão sobre a osteopatia na DC, buscando descrever a prevalência, fisiopatologia e abordagem terapêutica, incluindo a relação entre dieta isenta de glúten e a normalização da massa óssea, com ênfase na faixa etária pediátrica.



## 2. Doença celíaca: conceito, epidemiologia e fisiopatologia

A DC é uma doença sistêmica, imunomediada, desencadeada pelo glúten e suas prolaminas, em indivíduos geneticamente predispostos. Caracteriza-se pela presença de uma combinação variada de manifestações clínicas.<sup>1,2</sup> Sua prevalência é estimada em aproximadamente 1% da população mundial.<sup>2</sup> Um aumento recente tem sido relacionado à ocidentalização da dieta, mudanças na produção e preparação do trigo, assim como ao aumento do diagnóstico da DC.<sup>9</sup>

A associação genética da DC é bem estabelecida. A sua susceptibilidade está ligada à expressão dos haplótipos DQ2 e DQ8 do complexo de histocompatibilidade principal, presentes na superfície de células apresentadoras de antígenos leucocitários humanos (HLA - *Human Leukocyte Antigen*). Aproximadamente 90 a 95% dos pacientes herdam a codificação de alelos HLA - DQ2, enquanto que a maioria restante possui o HLA - DQ8 ou outros marcadores descritos mais recentemente.<sup>10</sup> A expressão destes antígenos é necessária, mas não suficiente para explicar a fisiopatologia da DC.<sup>2,9,10</sup> Além de parentes de primeiro grau, observa-se uma prevalência aumentada da DC em portadores de outras doenças autoimunes como o diabetes tipo 1, tireoidite de Hashimoto, hepatite autoimune, além de doenças com alteração cromossômica (síndromes de Down, Williams e Turner) e a deficiência seletiva de IgA.<sup>1</sup>

O glúten ingerido por indivíduos geneticamente predispostos determina uma resposta inflamatória na mucosa do intestino. A transglutaminase tecidual, presente nesta mucosa, retira radicais amina das moléculas de glutamina, presentes no glúten, transformando-os em ácido glutâmico. Este último possui afinidade pelos haplótipos DQ2 e DQ8.<sup>10,11</sup> A formação deste complexo induz a ativação de linfócitos T citotóxicos na lâmina própria intestinal, assim como de linfócitos B, que estimulam a produção de citocinas e autoanticorpos, provocando lesões em diversos tecidos.<sup>9,10,12</sup>

A DC apresenta clínica variada que se relaciona à intensidade, extensão e localização do processo inflamatório. Outros fatores que influenciam o quadro clínico são a sensibilidade individual, a quantidade de glúten na dieta, a época da sua introdução e o efeito protetor do aleitamento materno.<sup>4,10,12</sup> Sua forma clássica é caracterizada por sintomas de má absorção intestinal (diarreia, esteatorreia, inapetência, retardo do crescimento, deficiência de vitaminas, ferro,

cálcio e ácido fólico).<sup>12</sup> Entretanto, os quadros atípicos têm ocorrido mais frequentemente e incluem manifestações extra intestinais, como a dermatite herpetiforme, defeitos no esmalte dentário, baixa estatura, atraso puberal, infertilidade, anemia por deficiência de ferro refratária ao tratamento, deficiência não explicada de ácido fólico e vitamina B12, doenças neurológicas, alterações comportamentais, artrite e doenças hepáticas.<sup>4,10</sup> A osteomalácia, a osteopenia e a osteoporose são também manifestações atípicas comuns da DC, mesmo na ausência de má absorção.<sup>12</sup>

### 3. O osso normal

A massa óssea é mantida por um processo balanceado de remodelação que assegura a substituição contínua do osso antigo, fragilizado por microfraturas, pelo novo. Este processo envolve a combinação da reabsorção óssea pelos osteoclastos (células gigantes multinucleadas originadas da linha hematopoiética) e a nova formação óssea pelos osteoblastos (derivados das células mesenquimais multipotentes).<sup>13</sup> Os osteoclastos secretam íons de hidrogênio, para reabsorção de componentes minerais e proteases, para digestão da matriz proteica. Este processo dura de 2 a 3 semanas, quando ocorre a apoptose do osteoclasto. Já o osteoblasto forma o novo osso a partir de uma matriz proteica e osteocalcina, que posteriormente são mineralizados com hidroxapatita. Este processo é significativamente mais longo, podendo durar meses.<sup>14</sup>

Muitos fatores influenciam a remodelação óssea como: hormônios sexuais, vitamina D, paratormônio (PTH) e citocinas, incluindo as interleucinas 1 (IL-1) e 6 (IL-6). Também são fatores importantes para este processo o receptor ativador de fator nuclear kappa  $\beta$  (*Receptor Activated Nuclear Factor Kappa  $\beta$* - RANK), seu ligante RANKL (*Receptor Activated Nuclear Factor Kappa  $\beta$  Ligand*) e a osteoprotegerina (OPG).<sup>2,13,14</sup> O RANK é um receptor de superfície celular presente nos osteoclastos e seus precursores. Já o RANKL é produzido pelo osteoblasto. A ligação dos dois resulta na diferenciação do osteoclasto e, conseqüentemente, leva à reabsorção óssea. O processo é regulado pela produção do antagonista OPG que previne a ligação do RANK ao RANKL e ajuda na manutenção do controle da remodelação óssea.<sup>2,13,14</sup> Falhas em qualquer etapa podem resultar em fragilidade óssea.<sup>13</sup>

## 4. Osteopatia

### 4.1 Conceito, importância e epidemiologia

A osteopatia ocorre quando existem alterações da quantidade ou qualidade do arranjo do tecido ósseo com decorrente aumento da fragilidade e da susceptibilidade à fratura.<sup>5</sup> Há um comprometimento da remodelação óssea, com aumento da reabsorção e do uso dos minerais em relação a sua reposição.<sup>3,8</sup> A Organização Mundial de Saúde classifica a perda óssea de acordo com o grau, baseado em um padrão estabelecido entre mulheres jovens e saudáveis. Uma perda da densidade mineral óssea entre -1 e -2,5 desvio padrão (DP) é definida como osteopenia e uma perda  $\geq -2,5$  DP, osteoporose.<sup>5,13</sup> Alterações superiores à -2,5 DP, relacionadas à uma história de fratura devido à fragilidade óssea, é definida como osteoporose grave.<sup>5</sup>

A osteoporose e as fraturas relacionadas constituem um sério problema de saúde pública, causando prejuízo para qualidade de vida dessas pessoas.<sup>13,15</sup> A DC aumenta o risco da ocorrência de fraturas, inclusive na faixa etária pediátrica, sendo o risco relativo citado de 0,9 a 7.<sup>2,4,8,16</sup> Cerca de 95 a 99% da massa óssea é adquirida na infância e na adolescência.<sup>8,17</sup> Deficiências na aquisição do pico desta massa nesta fase podem ter efeitos deletérios e duradouros, comprometendo futuramente o osso.<sup>2,4,18,19</sup>

A real prevalência da osteopatia na DC é desconhecida devido ao limitado número de estudos e variedade da população estudada.<sup>19</sup> A baixa densidade mineral óssea afeta até 75% dos pacientes e pode ser encontrada em qualquer idade, independentemente do marcador sorológico estar positivo e da ocorrência de sintomas digestivos.<sup>8</sup> Também é citada uma prevalência de 38 a 72% em pacientes não tratados e de 9 a 47% naqueles em dieta isenta de glúten.<sup>9</sup> Na pediatria é descrito que, ao diagnóstico, um terço das crianças apresenta osteoporose, um terço osteopenia e, apenas o terço restante possui densidade mineral óssea normal.<sup>15</sup>

## 4.2 Fisiopatologia

### 4.2.1 Cálcio, vitamina D e paratormônio

A má absorção intestinal e a inflamação contribuem para a fisiopatologia da osteopatia da DC. A atrofia vilositária é responsável pelas alterações relacionadas à absorção intestinal e pelo **balanço negativo de cálcio**. Os mecanismos envolvidos são:

- má absorção de cálcio no intestino proximal, parcialmente reversível com a dieta isenta de glúten,<sup>20,21</sup>
- redução da absorção de cálcio relacionada à sua ligação a ácidos graxos não absorvidos no lúmen intestinal,<sup>20</sup>
- redução da ingestão de cálcio relacionada à intolerância à lactose (secundária à lesão vilositária presente inicialmente na DC) e baixo teor de cálcio e vitamina D presentes em alimentos naturalmente sem glúten, além da não fortificação da maioria destes alimentos.<sup>2,5,12,20</sup>

Apesar de a intolerância à lactose ser temporária na DC, muitos pacientes erroneamente mantém essa restrição. Também pode haver associação independente entre as duas doenças.<sup>20</sup>

A absorção intestinal de cálcio, sua reabsorção renal e sua troca com o tecido ósseo são bem reguladas por estes três órgãos e pelos hormônios: PTH, 1,25 dihidroxivitamina D e calcitonina.<sup>2</sup> A hipocalcemia induz a um aumento compensatório do PTH que leva a um aumento do *turnover* ósseo.<sup>2,20</sup> Porém, a reabsorção é mais rápida que a neoformação resultando em perda óssea e osteoporose. O aumento do PTH estimula o aumento renal da enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase que converte a 25-OH vitamina D em 1,25 dihidrovitamina D. A vitamina D aumenta a absorção intestinal de cálcio por meio do aumento de proteínas específicas que o transportam através dos enterócitos (calbindina, proteína ligadora de cálcio).<sup>5,20</sup> Porém, devido à imaturidade da calbindina na DC, essa medida não é eficaz.<sup>11,20</sup> Além disso, o aumento da 1,25 dihidrovitamina D pode, paradoxalmente, aumentar a reabsorção óssea, como ocorre nos pacientes com insuficiência renal crônica.<sup>20</sup>

A **vitamina D** é encontrada em duas formas: D3 (colecalciferol, produzido pelo organismo quando exposto aos raios UVB do sol) e D2 (ergocalciferol,

presente nos alimentos). Para sua ativação, ela é hidroxilada primeiramente no fígado em 25-OH vitamina D e, posteriormente, no rim em 1,25 dihidrovitamina D. Apesar de ter menor ação biológica, a principal forma circulante é a 25-OH vitamina D e sua concentração sanguínea reflete seu estado nutricional.<sup>5</sup> Mesmo em pacientes com DC sem tratamento, a função da vitamina D pode não estar comprometida pela conversão do seu metabólito, garantindo valores adequados de 1,25 dihidrovitamina D.<sup>20</sup> Essa é a razão do aumento deste último na DC.<sup>5</sup> Porém, um aumento sustentado da 1,25 dihidrovitamina D acaba acelerando a depleção do estoque de vitamina D, piorando a deficiência.<sup>4</sup>

A deficiência de vitamina D pode estar presente na DC apesar de, aparentemente, não ocorrerem alterações na expressão de seus receptores ou mesmo nos genes que o regulam.<sup>4,5,21</sup> Porém, a ocorrência da resistência a estes receptores na parede intestinal tem sido sugerida, assim como a diminuição no intestino do total de proteínas ligadoras de cálcio e de calbindina na DC ativa.<sup>4,22,23</sup> Além disso, a restrição da ingestão de leite de vaca e a má absorção intestinal podem contribuir para a deficiência.<sup>5,14</sup> Entre pacientes com DC, 62% ingerem menos vitamina D do que a recomendação.<sup>12</sup> Apesar de ser conhecido que apenas 5 a 10% da necessidade da vitamina D ser adquirida pela alimentação, com o restante sendo obtida por meio da exposição solar, a diminuição da sua ingestão contribui para o seu déficit.<sup>8</sup>

Alterações no metabolismo das gorduras, presentes na DC, podem interferir no da vitamina D.<sup>4</sup> A lesão da mucosa intestinal na DC pode contribuir para redução da função pancreática decorrente da diminuição das suas enzimas digestivas por comprometimento na liberação da colescistoquinina (hormônio responsável pela liberação das enzimas pancreáticas e da bile). A vitamina D, por ser lipossolúvel, depende de mecanismos de absorção semelhantes ao de qualquer gordura.<sup>24</sup>

Outra função da vitamina D na manutenção óssea relaciona-se ao seu efeito imunomodulador. Ela pode diminuir a lesão inflamatória no trato intestinal que, por sua vez, pode ter uma ação negativa na remodelação óssea.<sup>24</sup> A vitamina D atua reduzindo a IL-12 e a resposta T *helper* 1 (Th1), ambos resultando na diminuição da reabsorção óssea feita pelos osteoclastos.<sup>13</sup>

A faixa etária pediátrica é menos acometida em relação aos adultos no que se refere à deficiência de vitamina D. Alguns fatores contribuem para esse efeito negativo da idade nos valores da vitamina na DC como:

- adultos tendem a transgredir mais frequentemente a dieta;
- crianças são mais expostas ao sol, sendo os pais menos preocupados com os efeitos nocivos desta exposição;
- a suplementação de vitamina D é mais rotineira no primeiro ano de vida adiando a deficiência;
- crianças consomem mais leite de vaca e derivados, muitos destes fortificados com vitamina D.<sup>25</sup>

A dieta isenta de glúten pode normalizar o metabolismo da vitamina D. Apesar de não haver muitos estudos, alguns demonstram um aumento da vitamina D após o início da dieta, inclusive em crianças. A retirada do glúten diminuiu a lesão intestinal, melhora a absorção intestinal e diminuiu o processo inflamatório, fatores que melhoram o metabolismo da vitamina D.<sup>4, 26,27</sup>

A má absorção de cálcio associada à queda dos valores de vitamina D leva à um aumento do **PTH** em resposta à hipocalcemia.<sup>20</sup> Porém, mesmo sem haver deficiência de vitamina D, é bem estabelecido que o excesso de PTH está associado à perda óssea, pela ativação dos osteoclastos que removerem cálcio e outros minerais do osso.<sup>4,5,8,24</sup> Esta reabsorção não é balanceada pela neoformação levando à fragilidade óssea.<sup>6</sup> O hiperparatireoidismo relaciona-se à redução da massa mineral óssea em pacientes com DC, mesmo em tratamento.<sup>4,5,8</sup>

Alguns estudos do metabolismo ósseo em jovens com DC indicam que, assim como a vitamina D, o PTH pode não ser comprometido. Porém, mesmo assim, é demonstrado que a formação óssea prejudicada e o estímulo à reabsorção contribuem para a redução da massa óssea em crianças com DC.<sup>19</sup>

#### 4.2.2 Deficiências nutricionais

Além da má absorção intestinal da DC levar à hipocalcemia e a deficiência de vitamina D, outros **déficits nutricionais**, inclusive de outras vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e também das hidrossolúveis (C, B12, B6 e ácido fólico), podem ocorrer e comprometer o metabolismo ósseo.<sup>8,20</sup> A disfunção

pancreática na DC, alterando os mecanismos de ação da colescitoquinina, colabora para má absorção de diversos nutrientes.<sup>12,24</sup> O déficit de vitamina K leva ao aumento da perda renal de cálcio levando a redução da densidade mineral óssea. A vitamina K também age como cofator na gama-carboxilação dos resíduos de ácido glutâmico de várias proteínas ligadoras de cálcio - importantes para coagulação sanguínea e formação óssea. Também existem proteínas relacionadas à matriz óssea que são dependentes de vitamina K como a osteocalcina.<sup>13</sup>

Além da má absorção, os alimentos naturalmente sem glúten possuem baixas concentrações de cálcio, ferro, zinco, magnésio, vitaminas D e B, contribuindo para as deficiências nutricionais da DC.<sup>2</sup> A desnutrição e um índice de massa corporal (IMC) baixo gerados por esse prejuízo na absorção de nutrientes também têm impacto negativo ao osso.<sup>4,5,28</sup>

#### 4.2.3 Fator de crescimento insulina símile

Em pacientes com DC não tratados, são também descritos baixos valores de zinco que se relacionam a baixos valores de fator de crescimento denominado insulina símile 1 (*Insulin- Like Growth Factor 1 – IGF-1*), responsável pelo desarranjo do metabolismo ósseo, do crescimento e da função imune.<sup>20</sup> O IGF-1 é essencial para o crescimento longitudinal do osso e para a formação trabecular e cortical ósseas devido à interferência no metabolismo do cálcio e do fósforo.<sup>13,28</sup> Existem também receptores para IGF-1 nos osteoblastos e osteoclastos.<sup>13</sup> Uma deficiência relativa pode resultar em uma redução do crescimento longitudinal do esqueleto. A má absorção de proteínas diminui a produção de IGF-1 e do hormônio de crescimento (*Growth Hormone- GH*).<sup>28</sup> O GH estimula o aumento da massa muscular e a formação do tecido ósseo.<sup>24</sup> A diminuição destes fatores de estimulação do crescimento pode ser observada em pacientes com osteoporose, inclusive na DC.<sup>4,5</sup> Pacientes com DC, sem tratamento, podem ter uma redução do IGF-1 que, por sua vez, pode persistir mesmo um ano após dieta isenta de glúten. A diminuição do IGF-1 e das suas proteínas ligadoras pode ou não ser relacionado ao grau de atrofia da mucosa, o que explica o crescimento inadequado de crianças com DC mesmo sem clínica de má absorção.<sup>4</sup>

#### 4.2.4 Leptina

Estudos sugerem que o valor sérico da **leptina** correlaciona-se com a densidade mineral óssea.<sup>4,5</sup> Ela é secretada pelos adipócitos e possui um efeito anabólico direto sobre o osso (ação nos osteoblastos) e catabólico indireto (via mecanismos centrais hipotalâmicos, pela ativação do sistema nervoso simpático). Sua ação é complexa e faz-se por meio de efeitos diferentes na remodelação cortical e trabecular óssea. Já foi demonstrada redução da leptina em crianças com diagnóstico recente de DC e seu posterior aumento com a dieta isenta de glúten.<sup>4,5</sup> Também foi observada neste estudo que a densidade óssea tem correlação positiva com o peso corporal e o IMC - ambos relacionados à ação da leptina.<sup>4,5</sup>

#### 4.2.5 Outros hormônios

Outros fatores hormonais ligados à DC podem contribuir para a osteopatia. Em mulheres, a menopausa precoce ou períodos de amenorreia relacionados à desnutrição e ao desequilíbrio hormonal podem piorar a osteoporose na DC.<sup>3,20</sup> Em homens, o hipogonadismo, relacionado à resistência androgênica e a hiperprolactinemia podem ser fatores de risco associados para a osteopatia.<sup>9,20</sup> Além disso, é comum a associação da DC com outras doenças autoimunes (diabetes do tipo 1 e tireoidite) que também levam a fragilidade óssea.<sup>3,20</sup>

#### 4.2.6 Inflamação local e sistêmica

Recentemente, evidências têm sugerido a ação da **inflamação local e sistêmica** na fisiopatologia da osteopatia da DC, caracterizada pelo aumento crônico, sérico e na mucosa de citocinas pró inflamatórias, em especial das IL-1, IL-6 e do fator de necrose tumoral alfa (*Tumor Necrosis Factor Alpha* - TNF  $\alpha$ ).<sup>20</sup> A IL-1 e o TNF $\alpha$  estimulam a osteoclastogênese e a reabsorção óssea.<sup>14,20,24</sup> O TNF $\alpha$  também atua protegendo os osteoclastos da apoptose. Age inibindo a síntese de colágeno, *in vitro*, e diminuindo a formação óssea (síntese de osteoblastos com apoptose precoce). Atua também inibindo a ação da 1,25



dihidrovitamina D por meio da ativação de um inibidor nuclear que antagoniza o efeito da vitamina D.<sup>14</sup>

A IL-6 atua na reabsorção, recrutando os precursores de osteoclastos e estimulando a sua diferenciação. Há uma relação inversa entre IL-6 e densidade mineral óssea e direta com os valores de PTH e do teleopeptídeo do colágeno tipo I (marcador de reabsorção óssea) em pacientes com DC não tratados.<sup>20</sup> O estrógeno inibe a ativação da IL-6.<sup>13</sup> Por outro lado, a diminuição da IL-6 já foi descrita após instituição da dieta.<sup>5</sup> Também já foi citada a inibição da IL-12 e IL-18 (citocina com efeito inibitório na osteoclastogênese e na atividade dos osteoclastos) em pacientes não tratados.<sup>14,20</sup>

Em crianças já foi descrito um aumento de interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) na mucosa intestinal associado ao aumento da produção de IL-15, IL-18 e IL-21 ligados a ingestão de glúten.<sup>2,5</sup> O IFN- $\gamma$  atua estimulando a apresentação de antígenos e a osteoclastogênese com posterior ativação de células T.<sup>14</sup> O aumento de citocinas inflamatórias pode interromper o equilíbrio do metabolismo ósseo em crianças e adolescentes. Os mecanismos relacionados à infância e adolescência parecem ser semelhantes aos dos adultos.<sup>5</sup>

O desequilíbrio entre as repostas imunes adaptativas Th1/Th2 (T *helper* 2) iniciadas por estresse antigênico também participa na fisiopatologia da osteopatia.<sup>13</sup> O aumento de antígenos pela sensibilidade ao alimento ou pelo supercrescimento bacteriano pode contribuir para perda óssea. O sistema imune intestinal normalmente estabelece uma barreira imunológica contra doenças. Se esta é comprometida por alteração da permeabilidade intestinal, a absorção de nutrientes é reduzida e a perda da tolerância oral pode iniciar um estresse imunológico, que compromete o processo de remodelação óssea com predomínio da resposta Th1.<sup>13</sup>

O autoanticorpo antitransglutaminase IgA também parece agir na doença óssea. Estes autoanticorpos reconhecem a transglutaminase do tecido ósseo como antígeno, reagindo contra os condrócitos, matriz extracelular de colágeno e contra o tecido ósseo. Este anticorpo, denominado *anti-bone* IgA específico, foi detectado em 51.5% de pacientes com DC e em apenas 2% de uma população controle com osteoporose.<sup>11,29</sup>

Em pacientes com DC assintomática, fatores relacionados à inflamação parecem ser os principais causadores da osteopatia.<sup>2</sup>

#### 4.2.7 RANK/RANKL/OPG

Outro foco de estudo da osteopatia da DC relaciona-se a via **RANK/RANKL/OPG** – principal sinalizadora do metabolismo ósseo.<sup>5</sup> O RANKL é expresso e secretado pelos osteoblastos. Ele liga-se ao RANK (localizado na superfície dos osteoclastos) induzindo a diferenciação destas células e, conseqüentemente, a reabsorção óssea. A OPG, também secretada pelos osteoblastos, liga-se ao RANK e bloqueia a ligação RANK-RANKL inibindo a reabsorção óssea. Em pacientes com DC, mesmo com recuperação da mucosa intestinal, demonstrou-se aumento nos valores de OPG e RANKL, com uma relação OPG/RANKL inferior aos controles e com uma relação positiva com a densidade mineral óssea.<sup>5,8,13,20</sup> A produção de OPG é estimulada, *in vivo*, pelo estrogênio. A IL-6 promove a expressão do RANKL e da OPG, estimulando tanto a formação de osteoblasto como a reabsorção óssea. Apesar da função dos valores de OPG na DC não estarem totalmente elucidados, as evidências disponíveis sugerem que existam mecanismos protetores contra os fatores que causam lesão óssea.<sup>5</sup> Por sua vez, a baixa de estrogênio e a ativação do sistema imune, tanto por inflamação local ou sistêmica, reduzem a habilidade natural do corpo de limitar a produção de RANKL. O resultado é o aumento da ativação de osteoclasto e da reabsorção óssea. O IFN- $\gamma$  também tem capacidade moduladora no RANKL, que por sua vez, é influenciada pela vitamina D e estrógeno. O RANKL também aumenta a vida das células apresentadoras de antígenos e a expressão de citocinas pró inflamatórias.<sup>13</sup>

**Autoanticorpos contra OPG** também foram citados na osteopatia da DC.<sup>5,31</sup> Eles bloqueiam o efeito inibitório da OPG sobre o RANKL. Estes autoanticorpos foram detectados em um paciente do gênero masculino com DC e osteoporose grave e em outros três pacientes, em um estudo de *Riches et al.*<sup>30</sup> Já *Larussa et al* não demonstraram evidências destes anticorpos em 30 pacientes com DC, em dieta isenta de glúten, testados independentemente da densidade mineral óssea, histologia duodenal e HLA.<sup>5,31</sup> Portanto, a participação destes autoanticorpos contra a OPG na DC ainda não foi estabelecida.<sup>5</sup>

#### 4.2.8 Disbiose intestinal

A microbiota de crianças com DC em dieta isenta de glúten ou não e nos controles é significativamente diferente.<sup>24</sup> Bacterioides e *Clostridium leptum* são mais abundantes na DC independente da dieta, enquanto que as bifidobactérias estão em número menor. A *E. coli* e os estafilococos são mais abundantes nas crianças sem tratamento, sendo que a dieta normaliza esses valores. Essa disbiose intestinal (desequilíbrio da microbiota) pode contribuir para o processo inflamatório da doença e atuar na patologia da osteopatia.<sup>24</sup>

Quando a microbiota intestinal adequada é mantida, há uma tolerância imunológica que favorece uma resposta não inflamatória -TH2. O crescimento de bactérias não comensais e fungos desencadeia inflamação, aumento da permeabilidade intestinal e redução da tolerância oral, contribuindo para perda óssea com predomínio da resposta TH1.<sup>13</sup>

#### 4.2.9 Genética

Pesquisas têm demonstrado uma associação entre predisposição genética e perda de massa óssea em pacientes com DC. Um polimorfismo de um simples nucleotídeo no gene que codifica a citocina da família da IL-1 está associado à lesão óssea.<sup>2</sup> O portador do alelo do gene IL-1b (IL1B-511T) possui uma perda óssea significativamente maior e uma prevalência aumentada de osteopenia e osteoporose.<sup>2</sup>

Também já foi citada a presença aumentada de HLAB8, DR3 e B27 na DC em associação com doenças musculoesqueléticas. Mas ainda é incerto se estas características genéticas de ambas as condições estão presentes simultaneamente ou se indicam uma predisposição à osteopatia.<sup>11</sup>

Um resumo da fisiopatologia da osteopatia na DC pode ser visto no quadro 1.

**Quadro 1 - Fatores associados à fisiopatologia da osteopatia na DC**

<b>Fatores associados à fisiopatologia da osteopatia na DC</b>
<p><b>Balanco negativo de cálcio</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- má absorção intestinal</li> <li>- redução da ingestão de cálcio</li> <li>- deficiência de vitamina D</li> <li>- imaturidade da calbidina</li> </ul> <p><b>Vitamina D</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ingestão deficiente de vitamina D</li> <li>- resistência dos receptores de vitamina D</li> <li>- alteração do metabolismo de gorduras</li> <li>- imunomodulação</li> </ul> <p><b>Aumento PTH</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- hipocalcemia</li> <li>- má absorção de cálcio</li> <li>- deficiência de vitamina D</li> </ul> <p><b>Má absorção</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- cálcio</li> <li>- vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis</li> <li>- desnutrição</li> </ul> <p><b>Diminuição do IGF-1, GH e leptina</b></p> <p><b>Inflamação local e sistêmica</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Aumento IL-1, IL-6, IL-15, IL-21, TNF<math>\alpha</math> e IFN-<math>\gamma</math></li> <li>- Inibição da IL-12 e IL-18</li> <li>- Predomínio da resposta Th1</li> </ul> <p><b>RANK/RANKL/OPG</b></p> <p><b>Anticorpo contra OPG</b></p> <p><b>Disbiose intestinal</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- aumento de Bacterioides , <i>Clostridium leptum</i>, <i>E. coli</i> e estafilococos</li> <li>- diminuição bifidobactérias</li> <li>- aumento da resposta inflamatória</li> </ul> <p><b>Genética</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- alelo IL-1b (IL1B-511T) e HLAB8, DR3 e B27</li> </ul>

## 5. Fatores de risco

Outros fatores podem contribuir para a osteopatia da DC, relacionados ou não a própria doença. O diagnóstico tardio, a duração e gravidade da DC (incluindo da lesão histológica intestinal), a não adesão à dieta e o grau de osteopenia ao diagnóstico associam-se a piora da densidade óssea.<sup>4,5,20,32,33</sup> Este dano parece ter maior extensão na DC clássica em relação à doença subclínica.<sup>34,35</sup>

A DC também pode estar associada a fatores de risco já conhecidos como diminuição da atividade física, relacionada à fadiga e redução das relações sociais causadas pela própria doença. O exercício físico é uma fonte de *turnover* ósseo e é recomendado na prevenção de problemas do metabolismo ósseo.<sup>36</sup> Ele aumenta a citocina anti-inflamatória IL-10 e uma molécula receptora antagonista na modulação da IL-1. Também aumenta a IGF-1 que atua na força muscular e na coordenação, reduzindo as quedas (fator de risco para fratura).<sup>13</sup> Com a instituição do tratamento a atividade tende a aumentar.<sup>36</sup> Apesar de não ser o fator determinante, o sedentarismo contribui para diminuição da massa óssea na DC.<sup>5,36</sup>

O gênero e a idade do indivíduo, o hábito de fumar e beber, a baixa exposição ao sol, a história familiar de osteoporose, o uso de certos medicamentos (como corticoides) prejudicam a massa óssea, independentemente da DC. Estes fatores também devem ser considerados na avaliação do risco dos pacientes com DC.<sup>5,8,13,14,32</sup>

## 6. Manifestações clínicas

As manifestações da osteopatia não são comuns na DC.<sup>6,9</sup> São citadas: dor, alterações da marcha, atraso do crescimento, deformações ósseas e fraturas.<sup>37</sup> Mas os pacientes raramente queixam-se de dor óssea ou fraqueza muscular proximal.<sup>9</sup> Portanto, para o diagnóstico, é necessária a realização de medidas da densidade óssea.<sup>6</sup>

## 7. Avaliação da osteopatia na DC

Um limitado número de recomendações está disponível até o momento no manejo da osteopatia da DC.<sup>20</sup> Ainda se discute a real necessidade da avaliação do estado ósseo na faixa etária pediátrica, especialmente na curta exposição ao glúten e na adequada adesão à dieta.<sup>5,6,18,38</sup> Mas estudos têm demonstrando baixa densidade mineral óssea em crianças com DC em dieta isenta de glúten comparados aos controles, sugerindo que a avaliação sistemática deverá ser instituída até a recuperação óssea total ou até a conclusão do crescimento.<sup>5,38,39</sup> A preocupação relaciona-se ao fato de uma alteração do desenvolvimento ósseo na infância e adolescência poder afetar o crescimento final destes.<sup>5</sup>

Existem pacientes com risco aumentado para osteopatia e que devem ser avaliados, como: aqueles que não aderem ou não respondem ao tratamento com dieta sem glúten, uso de corticoides, IMC inferior a 20, história prévia de fratura relacionada à fragilidade óssea, idade superior a 70 anos, hipogonadismo sem tratamento e irregularidade menstrual.<sup>6,9,19</sup>

### 7.1 Propedêutica laboratorial

O uso de medidas do metabolismo ósseo ainda está limitado a pesquisas.<sup>19,40</sup> De acordo com a *American Gastroenterological Association* (2003), para o rastreamento de outras causas de baixa densidade óssea é recomendada a realização de hemograma, dosagens de fosfatase alcalina, cálcio, albumina, creatinina, testosterona (para os homens), 25-OH vitamina D e eletroforese de proteínas em pacientes com suspeita de complicações esqueléticas de doenças gastrointestinais. Em pacientes com diagnóstico recente de DC e naqueles com risco aumentado para osteopatia devem ser realizadas as dosagens de PTH, 25-OH vitamina D e cálcio.<sup>40</sup> Em 2012, *Fouda et al* reforçaram a indicação destes exames acrescentando a dosagem da albumina. Os exames deverão ser repetidos a cada seis meses até a normalização. Também indicaram a realização da sorologia para DC para avaliação da gravidade da doença e, conseqüentemente, do risco da osteopatia. Nesta revisão não foi indicada o *screening* de rotina em crianças e adolescentes que seguem adequadamente a dieta para DC.<sup>19</sup>

A avaliação laboratorial tem limitações. Muitas vezes não ocorrem modificações nestes exames e não há uma correspondência real com as alterações ósseas. Por isso, métodos que avaliam a densidade óssea são indicados.<sup>41</sup>

## 7.2 Densitometria e osteossinografia

A **densitometria óssea** com emissão de raios - X de dupla energia (DXA - *Dual Energy X-Ray Absorptiometry*) está recomendada para todos os pacientes no diagnóstico da DC, para detecção e abordagem precoce da osteoporose.<sup>20,42</sup> A indicação para mulheres na pós menopausa e homens acima de 55 anos é bem definida.<sup>20,42</sup> Alguns autores discordam da realização de rotina da DXA e recomendam a avaliação apenas para pacientes de risco.<sup>20</sup> A *American Gastroenterological Association* orienta a avaliação após um ano de dieta para determinar a estabilização da densidade mineral óssea e necessidade de tratamento específico.<sup>20,40</sup> *Fouda et al* (2012) sugerem essa avaliação no diagnóstico na DC sintomática, para pacientes de risco e após um ano de tratamento para pacientes com DC assintomáticos. A reavaliação deverá ser feita após um ano, se houver alteração no primeiro exame e, após dois anos, se a densidade mineral estiver normal.<sup>19,20,42</sup>

A idade avançada é um fator de risco importante para massa óssea, por isso, alguns autores não recomendam a avaliação de rotina para crianças e adolescentes.<sup>20</sup> Por outro lado, demonstrou-se um pico de massa óssea abaixo do ideal em crianças mesmo após dois anos de tratamento.<sup>43</sup> Autores têm questionado a não avaliação da saúde óssea nessa faixa etária e sugerem a realização de *screening* anual desde o diagnóstico para prevenção da perda óssea.<sup>5,39,41,43</sup>

Outro ponto de discussão refere ao método adequado para crianças. Pode ocorrer erro na interpretação dos resultados da DXA. O uso do escore T (referência de desvio padrão em comparação com adultos jovens), ao invés do escore Z (número de DP entre a média da densidade mineral óssea de um indivíduo e um grupo de pessoas da mesma idade e sexo), pode acarretar diferenças nas interpretações do mesmo exame.<sup>5,40</sup> As medidas da DXA são influenciadas pelo tamanho dos ossos analisados e pela quantidade de tecido

mole ao redor. Estes problemas são particularmente importantes em crianças e quando são feitos estudos longitudinais.<sup>41</sup> Portanto, médicos que trabalham com DXA para crianças têm que estar cientes desses problemas, além da exposição à radiação durante a realização do exame.<sup>5,41</sup>

A **osteossonografia**, método de ultrassom quantitativo, tem surgido como uma modalidade para avaliação do estado mineral ósseo, inclusive já aprovada pela *United States Food and Drug Administration*. Tem a vantagem de ser um equipamento portátil, não invasivo, barato, de rápida realização e livre de radiação (fator importante especialmente para crianças). Estudos têm demonstrado correlação com a DXA e boa correlação com a determinação do risco de fratura óssea.<sup>38,44,45,46,47,48,49</sup>

O tecido ósseo pode ser estudado baseado nas medidas da velocidade do ultrassom no osso, sendo a osteossonografia um método de ultrassom quantitativo (QSU- *Quantitative Ultrasound Method*). A QSU fornece informações da estrutura do osso e suas propriedades elásticas, importantes na determinação do risco de fraturas.<sup>17</sup> A QSU pode ser medida na porção distal da diáfise da falange proximal, na proximidade dos cêndilos, dos dedos II a V da mão. A porção distal da diáfise contém camada cortical, trabecular e pequeno canal medular e não possui centro de ossificação, o que poderia ser um fator de confusão. As medidas da velocidade do som dependente da amplitude e do tempo de transmissão óssea são realizadas nos quatro dedos. A média do conjunto das medidas é calculada e expressa em score Z e comparada ao padrão de normalidade estabelecida.<sup>17</sup> A realização das medidas nas falanges é interessante em pacientes com DC, pois o hiperparatireoidismo envolvido na fisiopatologia da osteopatia acomete especialmente a região cortical óssea.<sup>44</sup> A QSU pode também ser realizada no calcânhar, rádio, tíbia e patela.<sup>48</sup>

A osteossonografia das interfalanges tem se mostrado uma ferramenta útil na avaliação da qualidade óssea especialmente na pediatria.<sup>46,49</sup> Fornece informações da quantidade (massa óssea) e qualidade (elasticidade) óssea.<sup>47</sup> Mas mais estudos são necessários para avaliar sua função inclusive na substituição da DXA.<sup>40,46,48,49</sup>



## 8. Tratamento

### 8.1 Recomendações gerais

Muitas recomendações na abordagem da osteopatia da DC são baseadas nas avaliações realizadas na população geral e em mulheres na menopausa.<sup>6</sup> Especialmente na faixa etária pediátrica, ainda há necessidade de orientações específicas.

O risco da doença óssea deve ser sempre explicado ao paciente com DC. Orientações gerais devem ser enfatizadas como: prática regular de exercício físico, não fumar e beber, evitar uso de corticoides e adequada ingestão de cálcio e vitamina D.<sup>6,14,36,40,42</sup> O adequado controle do peso também deve ser orientado pois, tanto o IMC baixo quanto a obesidade acarretam prejuízo ósseo.<sup>4,5,14,28</sup>

Novas evidências têm sugerido a suplementação de probióticos e prebióticos como potenciais ferramentas na normalização da microbiota intestinal em pacientes com DC.<sup>24</sup> A restauração deste equilíbrio ajudaria na redução da resposta inflamatória. Porém, ainda são necessários estudos para comprovação deste benefício.<sup>24</sup>

### 8.2 Suplementação de cálcio e vitamina D

Recomenda-se que todo paciente com DC tenha uma adequada ingestão de cálcio e vitamina D, por serem estes fatores críticos na aquisição e manutenção da massa óssea.<sup>8</sup> Caso não ocorra uma ingestão igual ou superior à 1200-1500mg de cálcio e 800UI de vitamina D, a suplementação pode estar recomendada, assim como em outras formas de osteoporose.<sup>8,33</sup> Para crianças, 800mg de cálcio diariamente são suficientes para uma retenção diária de 100mg de cálcio nos ossos.<sup>50</sup> A necessidade de cálcio varia de acordo com a faixa etária: entre um a três anos é recomendada a ingestão de 700mg de cálcio ao dia, aumentando para 1000mg, na faixa de quatro a oito anos e, para 1300mg, de nove a 18 anos. A recomendação de vitamina D é de 600UI/dia.<sup>51</sup> Algumas publicações enfatizam a necessidade de um maior consumo de cálcio (mínimo de 1200mg/dia) e de vitamina D (mínimo de 1000 UI/dia) para pacientes com DC para compensar a absorção diminuída de ambas.<sup>2,4,9</sup> Da mesma forma, a

suplementação de ambos é muito importante para crianças em fase de crescimento.<sup>12</sup>

Foram publicados poucos estudos sobre a suplementação de cálcio e vitamina D para pacientes com DC.<sup>2</sup> Em adultos com DC, recomenda-se a suplementação de cálcio (500-1000mg/dia) associado à vitamina D (400-800UI/dia), caso haja deficiência, que deve ser avaliada pela determinação do nível plasmático da 25-OH vitamina D.<sup>42</sup> Em crianças e adolescentes com DC, um estudo demonstrou que a suplementação de cálcio (1g/dia) e de vitamina D (400UI/dia) aumentou a densidade mineral óssea, mas os valores ainda foram inferiores ao do grupo controle.<sup>2</sup> Ainda não há consenso na literatura. Até o momento, a suplementação deve ser selecionada individualmente.<sup>25,44</sup>

### 8.3 Dieta isenta de glúten

A restrição prolongada de glúten pode recuperar a densidade mineral óssea no paciente com DC, especialmente quando o diagnóstico é feito na infância e adolescência.<sup>2</sup> Entretanto, não há evidências se o pico de massa óssea ideal é alcançado e mantido por muitos anos, como ocorre em pessoas saudáveis.<sup>2</sup> Alguns estudos em crianças, utilizando DXA, demonstraram uma densidade óssea semelhante entre pacientes com DC após um ano de dieta quando comparados a controles.<sup>52,53,54,55</sup> *Hartman et al* citaram os benefícios do tratamento em crianças com DC com pelo menos um ano de dieta isenta de glúten, utilizando a osteossonografia. Ainda neste estudo, observou-se que a QSU forneceu mais informações que a DXA.<sup>38</sup> O efeito positivo de um tempo maior de dieta (média 8,6 anos) foi demonstrado por *Pedreira et al*.<sup>44</sup> Entretanto, as evidências de *Kalayci et al* foram diferentes. Foi observado que, após um ano de dieta, não houve recuperação completa da massa óssea em comparação com os controles.<sup>43</sup> Já outro estudo, após três anos de dieta, crianças e adolescentes apresentaram densidade mineral comparada aos controles, porém o tamanho do osso manteve-se reduzido.<sup>50</sup> *Greenhill* observou diminuição da massa óssea ao diagnóstico e um ano após início da dieta em crianças e adolescentes, mesmo naquelas com crescimento aparentemente adequado.<sup>18</sup> *Mager et al* também descreveram risco aumentado de comprometimento da massa óssea ao diagnóstico e um ano após dieta em crianças e adolescentes, associado à

redução de vitamina D e K.<sup>27</sup> *Leiva et al* observaram um risco aumentado de osteoporose em crianças mesmo em dieta sem glúten.<sup>56</sup>

A idade do início da dieta isenta de glúten influencia na recuperação óssea: quanto mais precoce o diagnóstico, maior a chance de recuperação.<sup>18,28,39,57</sup> Um estudo, desenvolvido em Recife por *Motta et al*, observou uma densidade óssea menor em crianças com diagnóstico de DC mais tardio.<sup>7</sup> A idade superior a dois anos ao diagnóstico e tempo de dieta inferior a um ano também foram fatores de risco para a massa óssea segundo *Scotta et al*.<sup>57</sup> Outro estudo mostrou que o diagnóstico e instituição da dieta antes dos quatro anos de idade relacionam-se a uma maior restituição da massa óssea.<sup>28</sup>

A recuperação da densidade mineral óssea ocorre de maneira diferente entre crianças e adolescentes. Em um estudo realizado em São Paulo por *Sdepanian et al*, medidas da massa óssea em adolescentes com DC (média de idade 14,3±1,4) foram inferiores aos controles, apesar de não terem sido observadas diferenças entre crianças com DC (média 7,6 ±1,4 anos) e controles. O início da dieta foi mais tardio nestes adolescentes, o que pode ter contribuído para o maior prejuízo ósseo neste grupo.<sup>58</sup> Outro estudo demonstrou diminuição da densidade óssea em adolescentes com DC em dieta em relação aos controles.<sup>59</sup> Em uma segunda avaliação após quatro anos neste mesmo estudo, feita em 11 desses pacientes, observou-se recuperação da massa óssea comparável a controles.<sup>59</sup> Esses achados reforçam a necessidade do diagnóstico e tratamento precoces na DC para prevenção do dano ósseo.<sup>58</sup>

Os efeitos negativos da transgressão à dieta já foram estudadas em crianças e adolescentes.<sup>7,17,60,61</sup> *Blazina et al* demonstraram prejuízo ósseo de crianças e adolescentes com DC independente do tratamento, porém com risco aumentado no grupo sem adesão à dieta.<sup>60</sup> A manutenção da dieta e sua correlação positiva com a densidade óssea em crianças com DC também foram enfatizadas nos estudos de *Motta et al* e *Heyman et al*.<sup>7,61</sup>

Os efeitos prolongados da dieta sem glúten no metabolismo ósseo ainda são pouco estudados. *Mora et al* demonstraram que um tempo superior a cinco anos de dieta assegurou uma mineralização e *turnover* ósseo normal em crianças e adolescentes, especialmente naqueles nos quais o diagnóstico foi realizado antes da puberdade.<sup>62</sup> Porém, avaliações sequenciais ainda são necessárias, especialmente para definição de como a osteopatia evolui.

Em adultos, a densidade mineral óssea e a sua recuperação são também motivos de estudos. Apesar de em um primeiro momento após início da dieta, especialmente nos primeiros dois anos, ocorrer uma melhora da massa óssea, esta não parece ser suficiente para restabelecer a normalidade em relação aos controles.<sup>4,8,19,20</sup> Mesmo quando há boa adesão à dieta, a grande maioria destes pacientes apresenta comprometimento ósseo.<sup>2</sup> Outro fator complicador para osteoporose é a menopausa que interage negativamente na saúde óssea.<sup>5</sup>

#### **8.4 Tratamentos para osteoporose**

Em crianças com DC, a terapia de escolha é a dieta isenta de glúten. Medicamentos para a osteoporose não são recomendados de rotina.<sup>4,5</sup>

O uso de terapia de reposição hormonal ou de bisfosfatos está reservado para mulheres com DC na menopausa ou pacientes com osteoporose grave.<sup>2,5,19</sup> Pacientes considerados de risco também devem ser avaliados para drogas específicas. São eles: pacientes sintomáticos, homens com mais de 55 anos, baixa ingestão de cálcio, não adesão ou não resposta à dieta sem glúten e aqueles que usam corticoides. O uso do denosumab (inibidor do RANKL, capaz de inibir a ativação do osteoclasto) tem sido estudado, porém ainda sem indicações bem estabelecidas.<sup>20</sup>

Ainda não existem evidências da eficácia e recomendações específicas dessas drogas no tratamento da osteoporose dos pacientes com DC.<sup>2,4,6</sup> Os benefícios da terapia são extrapolados da população geral, sendo necessários estudos específicos.<sup>42</sup>

### **9. Conclusão**

A DC constitui um risco para a massa óssea independente da faixa etária. Os mecanismos envolvidos na fisiopatologia são vários e relacionam-se com a má absorção de nutrientes e a inflamação local e sistêmica. A melhor forma de abordar a osteopatia da DC não é bem definida. Mas novos métodos de avaliação têm surgido para contribuir no manejo de uma complicação que, em sua maioria, é assintomática. A dieta isenta de glúten constitui, até o momento, a melhor terapia, porém nem sempre é capaz de normalizar a densidade mineral óssea. O

diagnóstico precoce e a adesão à dieta isenta de glúten são fatores que contribuem positivamente. Portanto, um esforço para o diagnóstico precoce e uma melhor compreensão da abordagem da osteopatia da DC devem ser priorizados com o objetivo de reduzir a prevalência de uma complicação da DC, que acarreta significativo prejuízo para a qualidade de vida do paciente e gastos para sociedade como um todo.

## Referências bibliográficas

1. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R *et al*; ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis; ESPGHAN Gastroenterology Committee. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012 Jan; 54(1): 136-60.
2. Krupa-Kozak U. Pathologic bone alterations in celiac disease: Etiology, epidemiology, and treatment. *Nutrition.* 2014 Jan; 30(1): 16-24.
3. Stazi AV, Trinti B. Risk of osteoporosis in endocrine disorders and celiac disease. *Ann Ist Super Sanita.* 2007; 43(4): 430-3.
4. Bianchi ML, Bardella MT. Bone and celiac disease. *Calcif Tissue Int.* 2002 Dec; 71(6): 465-71.
5. Larussa T, Suraci E, Nazionale I, Abenavoli L, Imeneo M, Lizza F. Bone mineralization in celiac disease. *Gastroenterol Res Pract.* 2012; 2012: 19802.
6. Corazza GR, Di Stefano M, Mauriño E, Bai JC. Bones in coeliac disease: diagnosis and treatment. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2005 Jun; 19(3): 453-65.
7. Motta MEFA, Faria MEN, Silva GAP. Prevalence of low bone mineral density in children and adolescents with celiac disease under treatment. *São Paulo Med J.* 2009 Sep; 127(5): 278-82.
8. Lucendo AJ, García-Manzanares A. Bone mineral density in adult coeliac disease: An updated review. *Rev Esp Enferm Dig.* 2013 May; 105(3): 154-162.
9. Xing Y, Morgan SL. Celiac disease and metabolic bone disease. *J Clin Densitom.* 2013 Oct-Dec; 16(4): 439-44.
10. Santos DRD, Machado APL, Silva LR. Doença Celíaca. IN: Carvalho E, Silva LR, Ferreira CT, editors. *Gastroenterologia e Nutrição em Pediatria.* Barueri: Manole; 2012. P. 359-40.
11. Vereckei E, Szodoray P, Poor G, Kiss E. Genetic and immunological processes in the pathomechanism of gluten-sensitive enteropathy and associated metabolic bone disorders. *Autoimmun Rev.* 2011 Apr; 10(6): 336-40.
12. García-Manzanares A, Lucendo AJ. Nutritional and dietary aspects of celiac disease. *Nutr Clin Pract.* 2011 Apr; 26(2): 163-73.
13. McCormick RK. Osteoporosis: integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility. *Altern Med Rev.* 2007 Jun; 12(2): 113-45.

14. Katz S, Weinerman S. Osteoporosis and gastrointestinal disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2010 Aug; 6(8): 506-17.
15. García-Manzanares A, Tenias JM, Lucendo AJ. Bone mineral density directly correlates with duodenal Marsh stage in newly diagnosed adult celiac patients. *Scand J Gastroenterol*. 2012 Sep; 47(8-9): 927-36.
16. Rastogi A, Bhadada SK, Bhansali A, Kochhar R, Santosh R. Celiac disease: A missed cause of metabolic bone disease. *Indian J Endocrinol Metab*. 2012 Sep; 16(5): 780-5.
17. Valerio G, Spadaro R, Iafusco D, Lombardi F, Del Puente A, Esposito A *et al*. The influence of gluten free diet on quantitative ultrasound of proximal phalanxes in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus and celiac disease. *Bone*. 2008 Aug; 43(2): 322-6.
18. Greenhill C. Celiac disease: Lack of vitamins D and K affects bone health in celiac disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011 Nov 8; 8(12): 660.
19. Fouda MA, Khan AA, Sultan MS, Rios LP, McAssey K, Armstrong D. Evaluation and management of skeletal health in celiac disease: position statement. *Can J Gastroenterol*. 2012 Nov; 26(11): 819-29.
20. Di Stefano M, Mengoli C, Bergonzi M, Corazza GR. Bone mass and mineral metabolism alterations in adult celiac disease: pathophysiology and clinical approach. *Nutrients*. 2013 Nov 22; 5(11): 4786-99.
21. Vogelsang H, Suk EK, Janisiw M, Stain C, Mayr WR, Panzer S. Calcaneal ultrasound attenuation and vitamin-D-receptor genotypes in celiac disease. *Scand J Gastroenterol*. 2000 Feb; 35(2): 172-6.
22. Rabelink NM, Westgeest HM, Bravenboer N, Jacobs MA, Lips P. Bone pain and extremely low bone mineral density due to severe vitamin D deficiency in celiac disease. *Arch Osteoporos*. 2011 Dec; 6(1-2): 209-13.
23. Walters JR, Banks LM, Butcher GP, Fowler CR. Detection of low bone mineral density by dual energy x ray absorptiometry in unsuspected suboptimally treated coeliac disease. *Gut*. 1995 Aug; 37(2): 220-4.
24. Malterre T. Digestive and nutritional considerations in celiac disease: could supplementation help? *Altern Med Rev*. 2009 Sep; 14(3): 247-57.
25. Lerner A1, Shapira Y, Agmon-Levin N, Pacht A, Ben-Ami Shor D, López HM *et al*. The clinical significance of 25OH-Vitamin D status in celiac disease. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2012 Jun; 42(3): 322-30.
26. Margoni D, Chouliaras G, Ducas G, Voskaki I, Voutsas N, Papadopoulou A *et al*. Bone health in children with celiac disease assessed by dual x-ray

absorptiometry: effect of gluten-free diet and predictive value of serum biochemical indices. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012 May; 54(5): 680-4.

27. Mager DR, Qiao J, Turner J. Vitamin D and K status influences bone mineral density and bone accrual in children and adolescents with celiac disease. *Eur J Clin Nutr.* 2012 Apr; 66(4): 488-95.

28. Tau C, Mautalen C, De Rosa S, Roca A, Valenzuela X. Bone mineral density in children with celiac disease. Effect of a Gluten-free diet. *Eur J Clin Nutr.* 2006 Mar; 60(3): 358-63.

29. Sugai E, Cherñavsky A, Pedreira S, Smecuol E, Vazquez H, Niveloni S *et al.* Bone-specific antibodies in sera from patients with celiac disease: characterization and implications in osteoporosis. *J Clin Immunol.* 2002 Nov; 22(6): 353-62.

30. Riches PL, McRorie E, Fraser WD, Determann C, van't Hof R, Ralston SH. Osteoporosis associated with neutralizing autoantibodies against osteoprotegerin. *N Engl J Med.* 2009 Oct 8; 361(15): 1459-65.

31. Larussa T, Suraci E, Nazionale I, Leone I, Montalcini T, Abenavoli L *et al.* No evidence of circulating autoantibodies against osteoprotegerin in patients with celiac disease. *World J Gastroenterol.* 2012 Apr 14; 18(14): 1622-7.

32. da Silva GA. Celiac disease: effects on bone mineralization. *J Pediatr (Rio J).* 2003 Jul-Aug; 79(4): 282-3. Portuguese.

33. Chakravarthi SD, Jain K, Kochhar R, Bhadada SK, Khandelwal N, Bhansali A *et al.* Prevalence and predictors of abnormal bone mineral metabolism in recently diagnosed adult celiac patients. *Indian J Gastroenterol.* 2012 Jul; 31(4): 165-70.

34. Corazza GR, Di Sario A, Cecchetti L, Jorizzo RA, Di Stefano M, Minguzzi L, *et al.* Influence of pattern of clinical presentation and of gluten-free diet on bone mass and metabolism in adult coeliac disease. *Bone.* 1996 Jun; 18(6): 525-30.

35. Cellier C, Flobert C, Cormier C, Roux C, Schmitz J. Severe osteopenia in symptom-free adults with a childhood diagnosis of coeliac disease. *Lancet.* 2000 Mar 4; 355(9206): 806.

36. Passananti V, Santonicola A, Bucci C, Andreozzi P, Ranaudo A, Di Giacomo DV *et al.* Bone mass in women with celiac disease: role of exercise and gluten-free diet. *Dig Liver Dis.* 2012 May; 44(5): 379-83.

37. Vasquez H, Mazure R, Gonzalez D, Flores D, Pedreira S, Niveloni S, *et al.* Risk of fractures in celiac disease patients: a cross-sectional, case-control study. *Am J Gastroenterol.* 2000 Jan; 95(1): 183-9.

38. Hartman C, Hino B, Lerner A, Eshach-Adiv O, Berkowitz D, Shaoul R, *et al.* Bone quantitative ultrasound and bone mineral density in children with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004 Nov; 39(5): 504-10.



39. Balcı TA, Koç ZP, Mitil HÁ. Bone mineral densitometry findings of children with newly diagnosed celiac disease. *Mol Imaging Radionucl Ther.* 2011 Aug; 20(2): 59-62.
40. American Gastroenterological Association medical position statement: guidelines on osteoporosis in gastrointestinal diseases. *Gastroenterology.* 2003 Mar; 124(3): 791-4.
41. Mora S. Celiac disease: a bone perspective. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003 Oct; 37(4): 409-11.
42. Scott EM, Gaywood I, Scott BB. Guidelines for osteoporosis in coeliac disease and inflammatory bowel disease. *British Society of Gastroenterology. Gut.* 2000 Jan; 46 Suppl 1: i1-8.
43. Kalayci AG, Kansu A, Girgin N, Kucuk O, Aras G. Bone mineral density and importance of a gluten-free diet in patients with celiac disease in childhood. *Pediatrics.* 2001 Nov; 108(5): E89.
44. Pedrera JD, López MJ, Canal ML, Costa C, Mañas P, Hernández ER *et al.* Quantitative phalangeal bone ultrasound is normal after long-term gluten-free diet in young coeliac patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001 Oct; 13(10): 1169-73.
45. Valerio G, del Puente A, Buono P, Esposito A, Zanatta M, Mozzillo E, *et al.* Quantitative ultrasound of proximal phalanges in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 2004 Jun; 64(3): 161-6.
46. 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 May; 49(5): 713-8.
47. Halaba Z, Pluskiewicz W. The assessment of development of bone mass in children by quantitative ultrasound through the proximal phalanges of the hand. *Ultrasound Med Biol.* 1997; 23(9): 1331-5.
48. Baroncelli GI. Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application. *Pediatr Res.* 2008 Mar; 63(3): 220-8.
49. 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 Jul; 54(1): 125-36.
50. Szathmári M, Tulassay T, Arató A, Bodánszky H, Szabó A, Tulassay Z. Bone mineral content and density in asymptomatic children with coeliac disease on a gluten-free diet. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001 Apr; 13 (4): 419-24.
51. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, editors.

Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.

52. Kavak US1, Yüce A, Koçak N, Demir H, Saltik IN, Gürakan F, *et al.* Bone mineral density in children with untreated and treated celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003 Oct; 37(4): 434-6.

53. Barera G, Mora S, Brambilla P, Ricotti A, Menni L, Beccio S, *et al.* Body composition in children with celiac disease and the effects of a gluten-free diet: a prospective case-control study. *Am J Clin Nutr.* 2000 Jul; 72(1): 71-5.

54. Mora S, Barera G, Beccio S, Menni L, Proverbio MC, Bianchi C, *et al.* A prospective, longitudinal study of the long-term effect of treatment on bone density in children with celiac disease. *J Pediatr.* 2001 Oct; 139(4): 516-21.

55. Mora S, Barera G, Ricotti A, Weber G, Bianchi C, Chiumello G. Reversal of low bone density with a gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease. *Am J Clin Nutr.* 1998 Mar; 67(3): 477-81.

56. Leiva L, Burrows R, Ríos G, Bergenfried C, Larrain F, Wenger J, *et al.* Bone mass in celiac patients. *Arch Latinoam Nutr.* 1996 Jun; 46(2): 128-31. Spanish.

57. Scotta MS, Salvatore S, Salvatoni A, De Amici M, Ghiringhelli D, Brogginini M, *et al.* Bone mineralization and body composition in young patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 1997 Aug; 92(8): 1331-4.

58. Sdepanian VL, de Miranda Carvalho CN, de Moraes MB, Colugnati FA, Fagundes-Neto U. Bone mineral density of the lumbar spine in children and adolescents with celiac disease on a gluten-free diet in São Paulo, Brazil. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003 Nov; 37(5): 571-6.

59. Carbone MC, Pitzalis G, Ferri M, Nenna R, Thanasi E, Andreoli A, *et al.* Body composition in coeliac disease adolescents on a gluten-free diet: a longitudinal study. *Acta Diabetol.* 2003 Oct; 40 Suppl 1: S171-3.

60. Blazina S, Bratanic N, Campa AS, Blagus R, Orel R. Bone mineral density and importance of strict gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease. *Bone.* 2010 Sep; 47(3): 598-603

61. Heyman R, Guggenbuhl P, Corbel A, Bridoux-Henno L, Tourtelier Y, Balençon-Morival M *et al.* Effect of a gluten-free diet on bone mineral density in children with celiac disease. *Gastroenterol Clin Biol.* 2009 Feb; 33(2): 109-14.

62. Mora S, Barera S, Beccio S, Proverbio MC, Weber G, Bianchi C *et al.* Bone density and bone metabolism are normal after long-term gluten-free diet in young celiac patients. *Am J Gastroenterol* 1999 Feb; 94(2) 398-403.

## **2 ARTIGO ORIGINAL**

### **AVALIAÇÃO OSTEOSONOGRÁFICA DA DENSIDADE MINERAL DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DOENÇA CELÍACA**

## **Avaliação osteossonográfica da densidade mineral de crianças e adolescentes com doença celíaca**

### **Resumo**

**Introdução:** A formação da massa óssea ocorre principalmente durante a infância e adolescência. A doença celíaca (DC) pode prejudicar esse processo. A ingestão de alimentos sem glúten previne e/ou atenua esta morbidade nestes pacientes.

**Objetivo:** Comparar, por meio da osteossografia das interfalanges, a densidade óssea de crianças e adolescentes com DC em dieta isenta de glúten e controles.

**Métodos:** Foram selecionados 31 participantes com diagnóstico de DC em dieta isenta de glúten há pelo menos um ano e 31 controles. Foram excluídos pacientes em uso de medicamentos, vitaminas e suplementos alimentares. Todos os participantes foram submetidos ao exame clínico, avaliação do estado nutricional, testes laboratoriais e osteossonografia.

**Resultados:** Devido à positividade do anticorpo antitransglutaminase em sete pacientes com DC, foi criado um terceiro grupo denominado DC sem tratamento. Não houve diferença entre os grupos em relação ao gênero, ingestão de cálcio, exposição solar, atividade física e dados antropométricos. A ingestão de cálcio foi baixa para todos os grupos. Não houve diferença na avaliação laboratorial (cálcio, fósforo e paratormônio), assim como nas variáveis avaliadas na osteossonografia (*Amplitude Dependent Speed of Sound* e *Bone Transmission Time*).

**Conclusão:** Crianças e adolescentes com DC, em dieta de restrição de glúten há pelo menos um ano, apresentam densidade mineral adequada à osteossonografia.

**Palavras chaves:** doença celíaca, crianças, osteopatia, osteossonografia.

## **Bone mineral density by quantitative ultrasound in children and adolescents with celiac disease**

### **Abstract**

**Introduction:** The most gain in bone mass occurs during childhood and adolescence. Celiac disease (CD) may impair bone mineralization. The gluten-free diet prevents and / or reduces this morbidity in these patients.

**Objective:** Compare, through quantitative ultrasound of phalanxes, bone density of children and adolescents with CD on a gluten-free diet and controls.

**Methods:** 31 participants with a diagnosis of CD on a gluten-free diet for at least one year and 31 controls were selected. Patients using drugs, vitamins and dietary supplements were excluded. All participants underwent medical, nutritional, biochemical evaluation and quantitative ultrasound.

**Results:** Due to positive transglutaminase antibody in seven patients with CD, a third group was created - CD without treatment. There were no difference between all groups in relation to gender, calcium intake, sun exposure, physical activity and anthropometric data. Calcium intake was low for all groups. There were no statistical differences between all groups in laboratory tests (calcium, phosphorus and parathyroid hormone), as well as data such as amplitude dependent speed of sound and bone transmission time by quantitative ultrasound.

**Conclusion:** Children and adolescents with CD, on a gluten-free diet for at least one year, have normal bone mineral density assessed by quantitative ultrasound.

**Key words:** celiac disease, children, osteopathy and quantitative ultrasound.

## 2.1 Introdução

A massa óssea é quase que totalmente adquirida durante a infância e a adolescência. Qualquer alteração nutricional ou doença crônica durante esse período pode predispor o indivíduo acometido ao risco de osteopatia em fases mais tardias da vida.<sup>1,2,3</sup> A doença celíaca (DC) pode prejudicar a mineralização óssea por diversos mecanismos como: má absorção de cálcio e vitamina D, hiperparatireoidismo secundário e inflamação local e sistêmica.<sup>1,2,3,4</sup> Ela é considerada uma causa frequente de osteopatia metabólica.<sup>2,5</sup> Na faixa etária pediátrica, é descrito que, ao diagnóstico, um terço das crianças apresenta osteoporose, um terço osteopenia e apenas o terço restante possui uma densidade óssea normal.<sup>6</sup> A dieta isenta de glúten é uma importante medida de redução do impacto negativo dessa doença na massa óssea mas, apesar de geralmente melhorá-la, raramente parece normalizá-la.<sup>5</sup>

Uma dieta de restrição de glúten prolongada parece recuperar a densidade mineral óssea especialmente quando o diagnóstico é feito na infância e adolescência.<sup>1,3,5,7</sup> Entretanto, não há evidências se o pico de massa óssea ideal é alcançado e mantido por muitos anos como ocorre em pessoas saudáveis.<sup>1,3,7</sup> Até o momento os estudos na faixa etária pediátrica são contraditórios.<sup>1,3</sup> Alguns já demonstraram melhora com a instituição da dieta de restrição de glúten.<sup>3,8,9,10,11,12</sup> Contudo, a recuperação incompleta da massa óssea e a redução do tamanho ósseo em comparação a controles também já foram registrados.<sup>13,14,15,16,17</sup>

A avaliação da densidade mineral óssea tem sido geralmente realizada por meio da densitometria com emissão de raios - X de dupla energia (DXA - *Dual Energy X - Ray Absorptiometry*). Porém, a osteossonografia tem surgido como uma modalidade de avaliação com vantagens: ser um equipamento portátil, não invasivo, barato, de rápida realização e livre de radiação. É um método de ultrassom quantitativo e qualitativo baseado na medida da velocidade ultrassônica.<sup>18</sup>

O presente estudo tem como objetivo comparar, por meio da osteossonografia, a densidade mineral óssea de crianças e adolescentes com DC e controles.

## 2.2 Métodos

A avaliação da densidade mineral óssea, por meio da osteossonografia das falanges, foi realizada em crianças e adolescentes com DC e controles, de julho a setembro de 2013.

### 2.2.1 Seleção da amostra

Os pacientes com DC foram selecionados por busca ativa no ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC - UFMG) e os controles no serviço de Pediatria do ambulatório Bias Fortes, da mesma instituição.

Os critérios de inclusão para o grupo com DC foram:

- Crianças e adolescentes de ambos os gêneros com idade entre 4 e 18 anos;
- Diagnóstico de DC de acordo com biópsia intestinal, segundo critérios internacionais;<sup>19,20</sup>
- Uso de dieta de exclusão de glúten há pelo menos um ano.

Os critérios de exclusão para o grupo com DC foram:

- Estar em uso de medicação que possa interferir na absorção do cálcio e vitamina D ou recebendo suplementação destes;
- Apresentar outra doença crônica (renal, cardíaca, hepática, gastrointestinal, diabetes, hipotireoidismo, doença associada ao uso crônico de corticoide);
- Transgressão da dieta isenta de glúten conhecida.

Os critérios de inclusão para o grupo controle foram:

- Idade entre 4 e 18 anos (idade e gênero pareados com o grupo com DC);
- Não estar em uso de medicamentos que possam interferir na absorção de cálcio e vitamina D ou recebendo suplementação destes ou suplementos alimentares.

Os critérios de exclusão para o grupo controle foram:

- Apresentar baixo peso, baixa estatura, sobrepeso ou obesidade de acordo com as curvas da Organização Mundial de Saúde;<sup>21</sup>
- Apresentar qualquer doença crônica ou uso crônico de medicamentos;
- Apresentar sorologia positiva (antitransglutaminase IgA e IgG) para DC.

### **2.2.2 Protocolo**

Depois de aplicados os critérios de inclusão e exclusão, foram convidados a participar do estudo 31 pacientes com DC e 31 controles. Ambos os grupos seguiram o mesmo protocolo de avaliação.

### **2.2.3 Avaliação laboratorial**

Realizou-se a coleta de sangue dos participantes pela manhã, em jejum de 12 horas, no Laboratório Central do HC-UFMG. Foram realizadas as seguintes medidas dos níveis plasmáticos de: cálcio, fósforo, 25-OH vitamina D, paratormônio (PTH), glicemia de jejum, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Todas as coletas foram realizadas durante o inverno para que não houvesse diferença nos valores de vitamina D se feitas em épocas do ano distintas. Os pacientes com DC também realizaram a dosagem da antitransglutaminase tecidual IgA (Elisa) como uma das formas de avaliar a transgressão à dieta.<sup>20</sup> Nenhum participante era portador de deficiência de IgA. Os controles também realizaram sorologia para DC (antitransglutaminase tecidual IgA e IgG) para exclusão da doença.

### **2.2.4 Avaliação clínica, nutricional, atividade física e exposição solar**

Todos os participantes foram submetidos ao exame clínico. Foram avaliados os seguintes parâmetros: pressão arterial, avaliação do estágio puberal (Tanner), peso, estatura e índice de massa corporal (IMC). As últimas três medidas foram classificadas, posteriormente, no escore Z, pelos programas Who Anthro v.3.2.2 e Who Anthro plus v.1.0.4. A avaliação da classe econômica foi feita utilizando-se o questionário da ABEP (Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa - Critério de classificação econômica Brasil, 2012).

A avaliação nutricional foi feita por meio da realização do questionário de frequência alimentar, recordatório do dia anterior e de três dias não consecutivos, posteriores à entrevista clínica. A análise da ingestão total de calorias e cálcio foi feita utilizando-se o programa DietPro 5i.<sup>®</sup> A recomendação dietética permitida (RDA - *Recommended Dietary Allowance*) foi baseada no *Institute of Medicine*



(US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium (2011). Para crianças de quatro a oito anos de idade, recomenda-se a ingestão de 1000mg de cálcio ao dia, sendo esta dose aumentada para 1300mg na faixa etária entre nove e dezoito anos.<sup>22</sup>

A atividade física foi avaliada por meio do questionário internacional de atividade física (*Internacional Physical Activity Questionnaire - IPAQ*) após tradução e adaptação, excluindo-se as atividades esportivas não praticadas no Brasil - (Anexo 1). O questionário 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 um a cinco e o escore final é obtido pela média das questões, representando o intervalo de muito sedentário (1) a muito ativo (5). Sendo assim, podem-se classificar os indivíduos como ativos (escore  $\geq 3$ ) ou sedentários (escores  $< 3$ ).<sup>23,24</sup>

A exposição solar foi avaliada utilizando-se um questionário específico adaptado (Anexo 2), medida em horas por semana, em horários distintos: de 10 a 16 horas e demais horários. As medidas de proteção foram avaliadas por meio de um escore baseado em um questionário padronizado. O escore vai de um a cinco, sendo considerada suficiente a proteção solar com valores superiores a três.<sup>25</sup>

A transgressão à dieta nos pacientes com DC foi avaliada por meio de pergunta objetiva direta, avaliação do questionário de frequência e recordatório alimentar, além da dosagem da antitransglutaminase tecidual IgA.

### **2.2.5 Osteossonografia das falanges**

Todas as osteossonografias foram realizadas na clínica de radiologia “CEU Diagnósticos”, sempre pela mesma examinadora, utilizando-se o mesmo aparelho *DBM Sonic Bone Profiler, Model BP01, IGEA Clinical Biophysics, Carpi, Modena, Itália*. Os parâmetros de avaliação da densidade mineral óssea seguiram o padrão do fabricante, utilizando-se a metáfise distal das falanges proximais da mão não dominante nos dedos de II a V, pois contêm camada cortical, trabecular e pequeno canal medular. Além disto, não possuem centro de ossificação, o que poderia ser um fator de confusão nas medidas do ultrassom.<sup>26</sup>

O sistema de medida do equipamento é constituído de um compasso que acopla dois transdutores de 12mm de diâmetro cada, um emissor e outro receptor,

com alta precisão, de cerca de 0,02mm. Estes transdutores são posicionados na superfície lateral de cada dedo, emitindo ondas sonoras de 1,25 MHz, que rastreiam as trabéculas ósseas. O equipamento determina automaticamente as medidas. As principais variáveis avaliadas são a ADSoS (*Amplitude-Dependent Speed of Sound*) e o BTT (*Bone Transmission Time*) que são fornecidas a partir da média de 96 registros dos quatro dedos. A média destas medidas é calculada e expressa em escore Z para idade e altura pelo próprio aparelho.

A ADSoS é a velocidade na qual o ultrassom atravessa a falange e é calculada dividindo-se o tempo obtido pelo primeiro sinal a ser recebido com a amplitude mínima pré determinada de 2mV, pela distância entre os duas ondas. Envolve a medida do osso e do tecido mole. Quanto maior o valor, maior será a quantidade óssea. Já o BTT é o intervalo entre o primeiro sinal recebido e o sinal que é propagado somente pelo tecido mole. Com isso, o impacto do tecido mole deverá ser mínimo, sendo essa medida mais fidedigna. Valores inferiores à -2 DP são considerados como baixa densidade óssea.<sup>27</sup>

### **2.2.6 Análise estatística:**

Utilizou-se o *software Statistical Package for Social Sciences (SPSS)® 20.0* para as análises estatísticas dos dados.

As variáveis avaliadas foram comparadas entre os grupos DC e controle. Inicialmente foi realizada a comparação das características dos grupos (idade, gênero, IMC), ingestão de cálcio, atividade física e exposição solar. Posteriormente foram avaliados os parâmetros laboratoriais e os fornecidos pela osteossonografia acima citados e denominados ADSoS e BTT. Durante o estudo constatou-se que sete pacientes no grupo com DC apresentavam antitransglutaminase tecidual positiva, indicando transgressão à dieta. Logo, um novo grupo foi criado. Assim, realizou-se a análise comparativa das mesmas variáveis em três grupos: controle, DC sem tratamento e DC em tratamento.

As variáveis quantitativas foram descritas por média  $\pm$  desvio-padrão (DP) e mediana (intervalo interquartil- IQR - *Interquartile Range*), quando tinham distribuição normal ou não, respectivamente. Nas comparações entre os grupos controle e DC em tratamento foram utilizados Teste t, quando havia distribuição normal, e Mann Whitney, quando não. O teste de normalidade utilizado foi o

Shapiro Wilks. Para as comparações entre os grupos controle, DC sem e em tratamento foram utilizados os testes ANOVA, quando havia distribuição normal e variância constante (avaliado pelo teste de Levene) e Kruskal Wallis quando não havia distribuição normal. Quando o resultado foi significativo ao nível de 0,05 utilizaram-se os testes de comparações múltiplas denominado LSD (*Least Significance Difference*), quando havia distribuição normal e o teste de Mann Whitney, com correção de Bonferroni quando não, assim o nível de significância foi de 0,017.

As variáveis qualitativas foram descritas por meio das frequências absolutas e porcentagem. As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando-se os testes Qui-quadrado de Pearson assintótico, quando 20% dos valores esperados das caselas estavam entre um e cinco e 80% maiores ou igual a cinco. O Qui-quadrado de Pearson exato foi utilizado quando mais que 20% do valor esperado estava entre um e cinco. Foi utilizada a análise de resíduos quando a variável qualitativa tinha mais do que duas categorias e o resultado dos testes qui-quadrado foram significativos para mostrar onde estava a diferença, isto é, resíduo padronizado  $>1,96$  ou resíduo padronizado  $<-1,96$ . O nível de significância utilizado foi  $\leq 0,05$ .

O cálculo do poder baseado no tamanho do efeito foi realizado por meio do software G power® versão 3.1.9.2. O nível de significância foi de 0,05. Foram utilizados: tamanho de amostra, valores de média e DP encontrados no presente estudo. Os testes foram: não paramétrico de Mann Whitney (controle e DC em tratamento) e ANOVA (controle, DC sem e em tratamento). O poder é considerado adequado quando acima de 0,8.

Para a avaliação da correlação entre as medidas da osteossonografia e o tempo de diagnóstico da DC e de dieta isenta de glúten foi utilizado o teste de Spearman (variáveis sem distribuição normal).

### **2.2.7 Aspectos éticos**

Todos os pacientes e/ou responsáveis concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para serem incluídos no estudo. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFMG (COEP - UFMG) – CAAE – (12064913.4.0000.5149).

### 2.3 Descrição da amostra

Inicialmente, sessenta e duas crianças e adolescentes participaram do estudo, sendo 31 em cada grupo: controle e DC em tratamento (dieta isenta de glúten). Porém, observou-se que sete pacientes com DC transgrediam a dieta quando analisados o recordatório alimentar e a sorologia antitransglutaminase tecidual. Dois destes foram identificados apenas pela positividade do anticorpo. Eles foram excluídos da análise inicial e, posteriormente, participaram de uma nova avaliação, em um terceiro grupo denominado DC sem tratamento (sem dieta de exclusão do glúten). Os dados serão apresentados inicialmente pela comparação entre grupo controle e DC em tratamento e, posteriormente, controle, DC em tratamento e DC sem tratamento.

A tabela 1 apresenta os dados da composição dos grupos em relação à idade, gênero, cor, classe social, estágio puberal e Z- IMC.

Tabela 1 – Comparação das variáveis demográficas e antropométricas entre os grupos controle e DC em tratamento

<b>Variáveis</b>	<b>Controle</b> n=31	<b>DC em tratamento</b> n=7	<b>Valor-p</b>
<b>Idade</b> Média±DP	10,93±4,49	10,50±4,32	0,725 <sup>1</sup>
<b>Gênero</b> Feminino Masculino	21 (56,8) 10 (55,6)	16 (43,2) 8 (44,4)	0,933 <sup>2</sup>
<b>Cor</b> Clara Parda Negra	5 (41,7) 25 (59,5) 1 (100,0)	7 (58,3) 17 (40,5) 0 (0,0)	0,328 <sup>3</sup>
<b>Classe social</b> A B1 e B2 C1 e C2	2 (28,6) 12 (46,2) 17 (77,3)	5 (71,4) 14 (53,8) 5 (22,7)	0,024 <sup>3</sup>
<b>Tanner</b> 1 2 3 4 5	15 (55,6) 3 (50,0) 1 (50,0) 4 (57,1) 8 (61,5)	12 (44,4) 3 (50,0) 1 (50,0) 3 (42,9) 5 (38,5)	0,987 <sup>3</sup>
<b>Z- IMC</b> Mediana (IQR)	0 (1)	0 (1)	0,123 <sup>4</sup>

1-Teste t 2- Teste Qui-quadrado de Pearson assintótico DP (Desvio padrão)

3- Teste Qui-quadrado de Pearson exato 4- Mann Whitney IQR (Intervalo Interquartil)

A idade média do grupo controle foi de  $10,93 \pm 4,49$  e do DC em tratamento foi de  $10,50 \pm 4,32$ . Não houve diferença com significado estatístico entre eles em relação à idade, gênero, cor, estágio puberal de Tanner e Z- IMC. Em relação à classe social, houve diferença entre os grupos, sendo que no grupo com DC em tratamento existiam mais pessoas na classe A e menos na classe C.

A tabela 2 mostra os dados da composição dos três grupos (controle, DC sem e DC em tratamento) em relação às variáveis citadas anteriormente. Não houve diferença com significado estatístico entre eles em nenhuma delas.

Tabela 2 – Comparação das variáveis demográficas e antropométricas entre os grupos controle, DC sem tratamento e DC em tratamento

<b>Variáveis</b>	<b>Controle</b> n=31	<b>DC sem tratamento</b> n=24	<b>DC em tratamento</b> n=7	<b>Valor-p</b>
<b>Idade</b> Média±DP	10,93±4,49	11,13±5,61	10,50±4,32	0,9201 <sup>1</sup>
<b>Gênero</b> Feminino Masculino	21 (50,0) 10 (50,0)	5 (11,9) 2 (10,0)	16 (38,1) 8 (40,0)	1,000 <sup>2</sup>
<b>Cor</b> Clara Parda Negra	5 (35,7) 25 (53,2) 1 (100,0)	2 (14,3) 5 (10,6) 0 (0,0)	7 (50,0) 17 (36,2) 0 (0,0)	0,632 <sup>2</sup>
<b>Classe social</b> A B1 e B2 C1 e C2	2 (25,0) 12 (42,9) 17 (65,4)	1 (12,5) 2 (7,1) 4 (15,4)	5 (62,5) 14 (50,0) 5 (19,2)	0,089 <sup>2</sup>
<b>Tanner</b> 1 2 3 4 5	15 (48,4) 3 (50,0) 1 (50,0) 4 (57,1) 8 (50,0)	4 (12,9) 0 (0,0) 0 (0,0) 0 (0,0) 3 (18,8)	12 (38,7) 3 (50,0) 1 (50,0) 3 (42,9) 5 (31,2)	0,943 <sup>2</sup>
<b>Z- IMC</b> Mediana (IQR)	0 (1)	1 (1)	0 (1)	0,1753 <sup>3</sup>

1-ANOVA 2- Teste Qui-quadrado de Pearson exato 3- Teste Kruskal Wallis  
DP (Desvio Padrão), IQR (Intervalo Interquartil)

Entre os pacientes com DC, a média de idade ao diagnóstico foi de 5,19 anos (DP±4,41). Não houve diferença estatística entre os grupos DC, sem e em tratamento, na idade e tempo de diagnóstico da doença.

A tabela 3 mostra a avaliação da ingestão de caloria, cálcio e o percentual de RDA de cálcio para o grupo controle e DC em tratamento. Também demonstra o escore de atividade física, sedentária (horas/semana), exposição solar e avaliação do uso de medidas de proteção ao sol para ambos os grupos. Não houve diferença estatística entre eles em nenhuma variável analisada.

Tabela 3 – Comparação das variáveis: ingestão alimentar, atividade física, exposição solar e medidas de proteção entre os grupos controle e DC em tratamento.

<b>Variáveis</b>	<b>Controle</b> n=31	<b>DC em tratamento</b> n=24	<b>Valor-p</b>	<b>Poder</b>
<b>Caloria/dia</b> Mediana (IQR)	2007,50(1272)	1747 (971)	0,340 <sup>1</sup>	0,1789 <sup>1</sup>
<b>Cálcio (mg/dia)</b> Mediana (IQR)	840 (494)	826,5 (1078)	0,642 <sup>1</sup>	0,0501 <sup>1</sup>
<b>%RDA</b> Mediana (IQR)	74,60 (31,70)	71,80 (84,05)	0,768 <sup>1</sup>	0,0505 <sup>1</sup>
<b>Atividade física- Escore</b> Mediana (IQR)	2,0 (0,84)	2,0 (1,0)	0,754 <sup>1</sup>	0,0852 <sup>1</sup>
<b>Atividade sedentária (horas/dia)</b> Mediana (IQR)	3,0 (4,0)	3,0 (2,0)	0,945 <sup>1</sup>	0,0797 <sup>1</sup>
<b>Exposição solar 10-16h</b> horas/semana Mediana (IQR)	7,0 (7,0)	5,0 (5,0)	<b>0,063<sup>1</sup></b>	0,2816 <sup>1</sup>
<b>Exposição solar outros horários</b> horas/semana Mediana (IQR)	2,0 (5,0)	4,0 (4,0)	0,660 <sup>1</sup>	0,0504 <sup>1</sup>
<b>Escore medida de proteção</b> Mediana (IQR)	2,25 (1,0)	2,50 (1,0)	0,298 <sup>1</sup>	0,0680 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Teste Mann Whitney, IQR (Intervalo interquartil), RDA (*Recommended Dietary Allowance*)

A tabela 4 demonstra a avaliação das mesmas variáveis da tabela 3 para os grupos controle, DC sem tratamento e DC em tratamento. Também não houve diferença entre elas.

Tabela 4 – Comparação das variáveis: ingestão alimentar, atividade física, exposição solar e medidas de proteção entre os grupos controle e DC sem tratamento e DC em tratamento

<b>Variáveis</b>	<b>Controle</b> n=31	<b>DC sem tratamento</b> n=7	<b>DC em tratamento</b> n=24	<b>Valor-p</b>	<b>Poder</b>
<b>Caloria/dia</b> Mediana (IQR)	2007,50 (1272)	1900 (417)	1747 (971)	0,498 <sup>1</sup>	0,4541 <sup>2</sup>
<b>Cálcio</b> (mg/dia) Mediana (IQR)	840 (494)	815 (562)	826,5 (1078)	0,822 <sup>1</sup>	0,0500 <sup>2</sup>
<b>%RDA</b> Mediana (IQR)	74,60 (31,70)	78,70 (47,02)	71,80 (84,05)	0,880 <sup>1</sup>	0,0588 <sup>2</sup>
<b>Atividade física- Escore</b> Mediana (IQR)	2,0 (0,84)	2,0 (1,0)	2,0 (2,0)	0,891 <sup>1</sup>	0,0725 <sup>2</sup>
<b>Atividade sedentária</b> (Horas/dia) Mediana (IQR)	3,0 (4,0)	3,0 (2,0)	3,0 (2,0)	0,834 <sup>1</sup>	0,0995 <sup>2</sup>
<b>Exposição solar 10-16h</b> horas/semana Mediana (IQR)	7,0 (7,0)	6,0 (12,0)	5,0 (5,0)	0,187 <sup>1</sup>	0,1164 <sup>2</sup>
<b>Exposição solar outros horários</b> horas/semana Mediana (IQR)	2,0 (5,0)	4,0 (4,0)	4,0 (4,0)	0,731 <sup>1</sup>	0,0551 <sup>2</sup>
<b>Escore medida de proteção</b> Mediana (IQR)	2,25 (1,0)	2,0 (1,0)	2,5 (1,0)	0,361 <sup>1</sup>	0,3127 <sup>2</sup>

1 -Teste Kruskal Wallis IQR (Intervalo interquartil) 2- ANOVA RDA (*Recommended Dietary Allowance*)

Para todos os grupos, observou-se uma ingestão de cálcio abaixo da recomendada. No grupo controle, 23 dos 31 pacientes estavam abaixo da recomendação. Entre os pacientes com DC, em tratamento e sem, 15 dos 24 e 6 dos 7 também estavam abaixo, respectivamente.

Em relação ao escore de atividade física, em todos os grupos houve predomínio do sedentarismo (escore <3), em números absolutos 25 dos 31 participantes no grupo controle, 20 dos 24 no DC em tratamento e 6 dos 7 no DC sem tratamento.

A exposição solar foi adequada para todos os participantes da pesquisa com médias superiores aos 15-20 minutos diários recomendados.<sup>25,28</sup>

A comparação dos exames laboratoriais para o grupo controle e DC em tratamento são demonstradas na tabela 5. Não houve diferença com significado estatístico.

Tabela 5 – Comparação das variáveis laboratoriais entre os grupos controle e DC em tratamento.

<b>Variáveis</b>	<b>Controle</b> n=31	<b>DC em tratamento</b> n=24	<b>Valor-p</b>	<b>Poder</b>
<b>Cálcio Total (mg/dl)</b> Mediana (IQR)	10,0 (0,0)	9,0 (1,0)	0,987 <sup>1</sup>	0,8743 <sup>1</sup>
<b>Fósforo (mg/dl)</b> Mediana (IQR)	5,0 (2,0)	5,0 (2,0)	0,855 <sup>1</sup>	0,1251 <sup>1</sup>
<b>Magnésio (mg/dl)</b> Mediana (IQR)	2,0 (0,2)	2,0 (0,2)	0,297 <sup>1</sup>	0,1797 <sup>1</sup>
<b>Fosfatase alcalina (U/L)</b> Média±DP	190,27±95,14	177,29±70,77	0,581 <sup>2</sup>	0,0847 <sup>1</sup>
<b>Glicemia (mg/dl)</b> Mediana (IQR)	86,0 (8,0)	85,5 (7,0)	0,524 <sup>1</sup>	0,0926 <sup>1</sup>
<b>25-OH vitamina D</b> (ng/ml) Média±DP	24,87±4,68	27,67±7,89	0,134 <sup>2</sup>	0,3309 <sup>1</sup>
<b>PTH (pg/ml)</b> Mediana (IQR)	43,0 (18,0)	49,0 (21,0)	0,312 <sup>1</sup>	0,1033 <sup>1</sup>

1- Teste Mann Whitney 2- Teste t. IQR (Intervalo Interquartil), DP (Desvio Padrão)

A tabela 6 mostra a comparação dos exames laboratoriais entre os três grupos: controle, DC sem tratamento e DC em tratamento. Todos os participantes apresentaram valores plasmáticos normais de cálcio, fósforo, magnésio, glicemia de jejum, AST e ALT. Apesar disso, na análise entre os três grupos, demonstrou-se uma diferença estatística em relação ao cálcio. Após a comparação múltipla, a diferença ocorreu quando se comparou o grupo controle e DC em tratamento e o controle e DC sem tratamento. (Mann Whitney, com correção de Bonferroni). Os valores do cálcio foram maiores no grupo controle



Tabela 6– Comparação das variáveis laboratoriais entre os grupos controle, DC sem tratamento e DC em tratamento

Variáveis	Controle n=31	DC sem tratamento n=7	DC em tratamento n=24	Valor-p	Poder
<b>Cálcio (mg/dl)</b> Mediana (IQR)	10,0 (0,0)	9,0 (1,0)	9,0 (1,0)	<b>0,002</b> <sup>1</sup>	0,7704 <sup>2</sup>
<b>Fósforo (mg/dl)</b> Mediana (IQR)	5,0 (2,0)	4,0 (2,0)	5,0 (2,0)	0,622 <sup>1</sup>	0,6026 <sup>2</sup>
<b>Magnésio (mg/dl)</b> Mediana (IQR)	2 (0,2)	2 (0,2)	2 (0,2)	0,312 <sup>1</sup>	0,1911 <sup>2</sup>
<b>Fosfatase alcalina (U/L)</b> Média±DP	190,27±95,14	172,43±61,52	177,29±70,77	0,797 <sup>2</sup>	0,1193 <sup>2</sup>
<b>Glicemia (mg/dl)</b> Mediana (IQR)	86,0 (8,0)	84,0 (8,0)	85,5 (7,0)	0,593 <sup>1</sup>	0,2080 <sup>2</sup>
<b>25-OH vitamina D</b> (ng/ml) Média±DP	24,87±4,68	36,57±7,81	27,67±7,89	<b>&lt;0,0001</b> <sup>2</sup>	0,99882
<b>PTH (pg/ml)</b> Mediana (IQR)	43,0 (18,0)	47,0 (31,0)	49,0 (21,0)	0,538 <sup>1</sup>	0,0093 <sup>2</sup>

1- Teste Kruskal Wallis 2- ANOVA IQR (Intervalo Interquartil), DP (Desvio Padrão)

Em relação a 25-OH vitamina D, não houve nenhum valor inferior a 10ng/ml (deficiência) entre todos os participantes. Mas houve diferença com significado estatístico entre os grupos. O DC sem tratamento obteve maior média em relação à vitamina D. Valores entre 10-30ng/ml (insuficiência) foram encontrados em 80,6%, 14,3% e 54,2% dos participantes dos grupos controle, DC sem tratamento e DC com tratamento, respectivamente. Na comparação múltipla da variável, a diferença encontrada ocorreu entre os grupos controle e DC sem tratamento e DC sem e com tratamento (comparação múltipla LSD).

Não houve diferença estatística entre os grupos em relação ao PTH. Apenas uma paciente do grupo DC em tratamento apresentou elevação do PTH que foi confirmada em uma nova coleta. Essa mesma paciente apresentou valor insuficiente de 25-OH vitamina D (13ng/ml).

## 2.4 Resultados da osteossonografia

A comparação das variáveis avaliadas pela osteossonografia para os grupos controle e DC em tratamento e grupos controle, DC sem tratamento e DC em tratamento são demonstradas na tabela 7 e 8 respectivamente.

Tabela 7 – Resultados da comparação das variáveis da osteossonografia entre os grupos controle e DC em tratamento

Variáveis	Controle n=31	DC em tratamento n=24	Valor-p	Poder
<b>ADSoS (m/s)</b> Média±DP	1994,2±95,2	1970,8±79,0	0,335 <sup>1</sup>	0,1565 <sup>2</sup>
<b>ADSoS Z-idade</b> Mediana (IQR)	1,0 (2,0)	0,5 (1,0)	0,249 <sup>2</sup>	0,1975 <sup>2</sup>
<b>ADSoS Z-altura</b> Mediana (IQR)	1,0 (2,0)	1,0 (1,0)	0,555 <sup>2</sup>	0,0944 <sup>2</sup>
<b>BTT μs</b> Mediana (IQR)	1,0 (0,0)	1,0 (0,0)	0,500 <sup>2</sup>	0,0879 <sup>2</sup>
<b>BTT Z- idade</b> Mediana (IQR)	1,0 (1,0)	0,0 (1,0)	0,380 <sup>2</sup>	0,1208 <sup>2</sup>
<b>BTT Z- altura</b> Mediana (IQR)	1,0 (1,0)	1,0 (1,0)	0,821 <sup>2</sup>	0,6975 <sup>2</sup>

1- Teste t 2- Mann Whitney IQR (Intervalo Interquartil), DP (Desvio Padrão)

Tabela 8– Resultados da comparação das variáveis da osteossonografia entre os grupos controle, DC sem tratamento e DC em tratamento

Variáveis	Controle n=31	DC sem tratamento n=7	DC em tratamento n=24	Valor-p	Poder
<b>ADSoS m/s</b> Média±DP	1994,23±95,24	1977,57±127,15	1970,79±78,97	0,645 <sup>1</sup>	0,0946 <sup>1</sup>
<b>ADSoS Z-idade</b> Mediana (IQR)	1,0 (2,0)	1,0 (2,0)	0,5 (1,0)	0,433 <sup>2</sup>	0,5418 <sup>1</sup>
<b>ADSoS Z-altura</b> Mediana (IQR)	1,0 (2,0)	1,0 (2,0)	1,0 (1,0)	0,617 <sup>2</sup>	0,3708 <sup>1</sup>
<b>BTT μs</b> Mediana (IQR)	1,0 (0,0)	1,0 (1,0)	1,0 (0,0)	0,591 <sup>2</sup>	0,1507 <sup>1</sup>
<b>BTT Z- idade</b> Mediana (IQR)	1,0 (1,0)	1,0 (1,0)	0,0 (1,0)	0,591 <sup>2</sup>	0,1891 <sup>1</sup>
<b>BTT Z- altura</b> Mediana (IQR)	1,0 (1,0)	1,0 (1,0)	1,0 (1,0)	0,881 <sup>2</sup>	0,0637 <sup>1</sup>

1- ANOVA 2- Teste Kruskal Wallis IQR (Intervalo Interquartil), DP (Desvio Padrão)

Apesar de não ter havido diferença com significado estatístico entre os grupos em relação aos parâmetros da osteossonografia, uma paciente do grupo DC sem tratamento apresentou valores alterados no exame (ADSoS Z idade -2,89, Z altura -2 e BTT Z idade -2,11).

As avaliações das correlações entre os valores das variáveis da osteossonografia em relação ao tempo de diagnóstico da DC para o grupo DC (sem e em tratamento) e tempo de dieta para o grupo DC em tratamento são demonstradas nas tabelas 9 e 10. Houve diferença com significado estatístico apenas em relação ao ADSoS. Quanto maior o tempo de diagnóstico da DC, maior o valor do ADSoS.

Tabela 9 – Correlações entre as variáveis da osteossonografia e o tempo de diagnóstico da DC

<b>Correlações</b>	<b>Correlação de Spearman</b>	<b>Valor-p</b>
<b>Tempo x ADSoS (m/s)</b>	0,418	<b>0,019</b>
<b>Tempo x ADSoS Z-idade</b>	0,293	0,109
<b>Tempo x ADSoS Z-altura</b>	0,026	0,890
<b>Tempo x BTT<math>\mu</math>s</b>	0,289	0,114
<b>Tempo xBTT Z- idade</b>	0,217	0,242
<b>Tempo xBTT Z- altura</b>	-0,008	0,967

Tabela 10 – Correlações entre as variáveis da osteossonografia e o tempo de dieta isenta de glúten para o grupo DC em tratamento

<b>Correlações</b>	<b>Correlação de Spearman</b>	<b>Valor-p</b>
<b>Tempo x AD-SoS (m/s)</b>	0,298	0,158
<b>Tempo x AD-SoS Z-idade</b>	0,246	0,247
<b>Tempo x AD-SoS Z-altura</b>	-0,082	0,705
<b>Tempo x BTT<math>\mu</math>s</b>	0,128	0,553
<b>Tempo x BTT Z- idade</b>	0,369	0,076
<b>Tempo x BTT Z- altura</b>	0,070	0,744

## 2.5 Discussão

A DC é uma doença sistêmica imunomediada desencadeada pelo glúten em indivíduos geneticamente predispostos e que tem prevalência aumentada no gênero feminino (proporção de 2:1).<sup>3,20,29</sup> Logo, a proporção entre os gêneros na amostra do presente estudo é compatível com a descrita na literatura mundial (21 gênero feminino e 10 masculino).

O tratamento da DC é baseado na dieta com restrição do glúten, porém a transgressão é muito frequente, com taxas descritas de 50 a 80%<sup>30,31</sup> No presente estudo, ela foi percebida em sete dos 31 participantes durante a avaliação do recordatório alimentar e/ou sorologia mesmo após pergunta objetiva sobre a transgressão. O consumo acidental por desconhecimento ou contaminação alimentar, inclusive em utensílios de cozinha, é uma das explicações para o achado. Setenta por cento dos alimentos industrializados pode conter glúten pela própria composição ou pela sua presença em espessantes e emulsificantes utilizados nesses produtos. Outros problemas relacionados à adesão são o alto custo da dieta sem glúten e a dificuldade em seguir uma restrição alimentar para o resto da vida.<sup>31</sup>

Além do recordatório alimentar, a sorologia antitransglutaminase positiva foi usada para avaliação da não adesão à dieta. Apesar de ser conhecido que pequenas transgressões não podem ser detectadas por nenhum método laboratorial até o momento, a sorologia antitransglutaminase é usada para esse fim.<sup>19,32,33</sup>

A comparação entre os grupos mostrou que o grupo controle foi formado por participantes com características semelhantes as do grupo com DC (demográficas, antropométricas, alimentares, atividade física e exposição solar). Apenas a variável classe social mostrou-se diferente com predomínio da classe A, no grupo com DC. Porém, como não houve diferença nas outras variáveis analisadas, esse fato não prejudicou a comparação entre os grupos. Como o seguimento da DC nem sempre é de domínio médico, mesmo pacientes de classes econômicas mais altas acabam utilizando o serviço público de referência. Já a semelhança entre os grupos em relação às medidas antropométricas (peso, altura e IMC) é esperada, já que com a instituição da dieta, os pacientes com DC tendem a apresentar recuperação nutricional devido à restituição da capacidade absorptiva da mucosa intestinal pela exclusão do glúten.<sup>10</sup>

A ingestão de cálcio observada no estudo foi abaixo da recomendação adequada para idade em todos os grupos, com valores percentuais de 74,6, 78,7 e 71,8 para os grupos controle, DC sem tratamento e DC com tratamento, respectivamente. Em pacientes com DC, essa redução pode estar relacionada à baixa ingestão de leite de vaca devido à intolerância à lactose (secundária à lesão vilositária presente, inicialmente, na DC), ao baixo teor de cálcio presente em

alimentos naturalmente sem glúten, além da não suplementação de cálcio na maioria destes alimentos.<sup>1,3,31</sup> Esse achado é semelhante aos resultados encontrados por outros autores independente da adesão ou não à dieta, inclusive no Brasil.<sup>26,34,35</sup> Em crianças e adolescentes saudáveis, a inadequada ingestão de cálcio também tem sido citada em diversos trabalhos.<sup>34,36,37,38,39,40</sup> Um estudo, feito em São Paulo, demonstrou ingestão de cálcio inferior à recomendação em 70% dos participantes (adolescentes e adultos).<sup>37</sup> Outro estudo brasileiro, em crianças entre dois a seis anos de idade, mostrou ingestão inadequada em até 45% das crianças de quatro anos.<sup>38</sup> A má qualidade da alimentação atual tem favorecido a carência de diversos nutrientes em todo mundo, sendo recomendada uma melhor avaliação da ingestão de cálcio para prevenção de osteopatia também na população geral.

O sedentarismo foi outro achado comum a todos os grupos. A grande maioria das crianças e adolescentes no estudo possuía atividade física abaixo da que é considerada ativa. A diminuição da atividade física, relacionada à fadiga e redução das relações sociais, pode ser causada pela própria DC. Mas com a instituição da dieta, a atividade tende a aumentar.<sup>41</sup> O problema é que o sedentarismo tem sido observado em crianças e adolescentes saudáveis e o grupo com DC tem se comportado da mesma maneira. Em um estudo realizado no Rio de Janeiro, por exemplo, observou-se que 85% dos meninos e 94% das meninas eram sedentários quando avaliados pelo questionário de IPAQ.<sup>24</sup> O exercício físico é uma fonte de *turnover* ósseo e é recomendado na prevenção de problemas do metabolismo ósseo para pacientes com DC e pessoas saudáveis de qualquer idade.<sup>41</sup> Logo, orientações sobre a prática regular de exercício devem ser feitas para todas as pessoas.

A exposição solar adequada para conversão da pró-vitamina D foi encontrada em todos os participantes da pesquisa, com médias superiores aos 15-20 minutos diários recomendados.<sup>25,28</sup> Já as medidas de proteção solar ficaram com média abaixo da recomendada. Este achado é diferente da tendência observada no mundo em relação ao aumento das medidas de proteção e diminuição da exposição solar. O fato de o Brasil ser um país de clima tropical favorece a adequada exposição durante todo o ano, independente da estação.<sup>42,43</sup>

Até o momento, a avaliação laboratorial da osteopatia na DC tem apresentado suas limitações sendo que, muitas vezes, não ocorrem modificações

nos exames mesmo quando há fragilidade óssea estabelecida.<sup>44</sup> As medidas plasmáticas de PTH, 25-OH vitamina D e cálcio devem ser realizadas em pacientes com diagnóstico recente de DC e com risco aumentado para osteopatia.<sup>45</sup> Também há indicação de realização da sorologia para DC para avaliação da gravidade da doença e do risco de alterações ósseas. O *screening* de rotina em crianças e adolescentes que seguem a dieta adequadamente ainda é controverso.<sup>46</sup> No presente estudo, todos os pacientes apresentaram valores adequados de cálcio sérico. Mas na comparação entre os três grupos, o controle obteve maior mediana. A DC leva a má absorção de cálcio e a instituição da dieta tende a resolver esse problema.<sup>7</sup> No estudo realizado por *Kavak et al*, observou-se uma leve hipocalcemia em crianças com DC com diagnóstico recente (17,6%) e um ano após dieta sem glúten (3,6%).<sup>9</sup> *Tau et al* também descreveram uma leve hipocalcemia em crianças antes do início da dieta sem glúten.<sup>47</sup> Por outro lado, a ausência de diferença entre os valores do cálcio entre pacientes com DC, com ou sem tratamento, também já foram descritos em diversos trabalhos.<sup>13,18,35,48</sup> Resultados semelhantes foram obtidos em estudos que tiveram grupo controle<sup>14,34</sup>

Todos os participantes do presente estudo tiveram valores de fósforo e magnésio normais e sem diferenças estatísticas entre os grupos. Resultados semelhantes já foram descritos em outros estudos.<sup>13,18,48</sup> Porém, baixos valores de fósforo já foram encontrados em 23,3% de pacientes com DC em dieta de exclusão, por *Sdepanian et al*, sendo que um destes pacientes apresentou também baixo valor de magnésio.<sup>34</sup> Em outro estudo, apesar de não ter sido observada diferença entre os valores de fósforo entre pacientes com diagnóstico recente de DC e dieta de exclusão, por pelo menos dois anos, foi feita uma correlação entre altos valores de fósforo e anormalidades na DXA. No entanto, os próprios autores ressaltam que o número da amostra foi pequeno para extrapolação dos resultados.<sup>48</sup>

Não houve diferença entre os grupos em relação à fosfatase alcalina no presente estudo. Resultados semelhantes já foram descritos.<sup>14,18,47,48</sup> Mesmo sem diferença entre pacientes com DC, com e sem dieta de exclusão, *Kavak et al* observaram um valor diminuído de fosfatase nas crianças tratadas.<sup>9</sup> Apesar de ser indicativa de atividade osteoblástica, a fosfatase alcalina não é específica do tecido ósseo, já que pode ser encontrada no fígado, rins e placenta. Logo, a interpretação dos seus valores é limitada.<sup>49</sup> A comparação da fosfatase alcalina

óssea (produzida exclusivamente por osteoblastos) foi usada por *Mora et al* em um estudo que comparou crianças com DC em dieta isenta de glúten há pelo menos cinco anos e controles. Não foi observada diferença estatística entre os grupos.<sup>50</sup> Porém, um aumento da fosfatase óssea em crianças com DC, em média de tempo de dieta de quatro anos, em comparação ao controle foi descrito em outra pesquisa de *Mora et al*. Este aumento foi associado à recuperação do crescimento destas crianças após início da dieta.<sup>11</sup>

Na comparação entre os três grupos, foi observada diferença estatística na avaliação da 25-OH vitamina D. A diferença foi percebida na comparação entre os grupos controle e DC sem tratamento e DC sem e com tratamento. As maiores médias foram obtidas nos grupos DC sem tratamento, DC em tratamento e controle. Apesar de nenhum participante ter apresentado deficiência da vitamina D (ou seja, <10ng/ml), houve uma elevada taxa de insuficiência (10-30ng/ml). O ponto de corte na definição de suficiência de vitamina D é ainda controverso. Para a *Endocrine Society* é considerado suficiente valores  $\geq 30$  ng/mL- o mesmo valor utilizado na referência do laboratório do presente estudo.<sup>51</sup> Já para o *Institute of Medicine* (IOM), um valor sérico de vitamina D de 20 ng/mL supre as necessidades de 97,5% da população.<sup>52</sup>

A vitamina D relaciona-se à massa óssea, pois atua aumentando a absorção intestinal de cálcio por meio do aumento de proteínas específicas que o transportam através dos enterócitos.<sup>1,4</sup> Para sua ativação, a vitamina D é hidroxilada primeiramente no fígado, em 25-OH vitamina D e, posteriormente, no rim, em 1,25 dihidrovitamina D. Sua principal forma de circulação é a 25-OH vitamina D e sua concentração sanguínea reflete o estado nutricional.<sup>1</sup> Apesar de ser conhecido que apenas 5 a 10% da necessidade vitamínica ser adquirida pela alimentação, sendo o restante obtido por meio da exposição solar, a diminuição da sua ingestão contribui para o seu déficit.<sup>2</sup> Logo, o baixo consumo de alimentos com cálcio pode estar relacionado à baixa ingestão de vitamina D entre os participantes e contribuir para a insuficiência observada nesse estudo, já que a exposição solar foi adequada para todos os participantes.

A deficiência de vitamina D pode ocorrer em pacientes com DC devido à sua má absorção secundária à lesão intestinal e à ingestão inadequada relacionada à restrição de leite de vaca.<sup>1</sup> A dieta isenta de glúten parece normalizar o metabolismo da vitamina D pela diminuição da lesão intestinal,

melhora da absorção e diminuição do processo inflamatório. Apesar de não haverem muitos estudos, alguns demonstram um aumento da vitamina D após o início da dieta em crianças ou mesmo uma tendência de diminuição da vitamina em pacientes não tratados.<sup>7,9,16,48</sup> Outros trabalhos não demonstraram diferenças entre DC, sem e com dieta, inclusive por não terem observado valores de vitamina D deficientes.<sup>35,47</sup> A faixa etária pediátrica parece ser menos acometida, comparada aos adultos. Isso ocorre por várias razões: as crianças são mais expostas ao sol, havendo ainda pouca preocupação por parte dos pais em relação aos efeitos nocivos desta exposição, consomem mais leite e derivados, muitos destes suplementados e usam mais rotineiramente suplementação de vitamina D no primeiro ano de vida, adiando a deficiência. Além desses fatores, a transgressão à dieta é mais comum nos adultos em relação às crianças.<sup>53</sup> No presente estudo, foi observada maior média dos valores de vitamina D no grupo DC sem tratamento. Esse achado não foi correlacionado aos adequados parâmetros de densidade mineral à osteossonografia observado neste grupo (relação de Spearman, sem significado estatístico). O pequeno número da amostra não permite a extrapolação dos resultados.

Os grupos do presente estudo não apresentaram diferenças em relação ao PTH. Apenas uma paciente com DC em tratamento apresentou aumento do PTH associada à insuficiência de vitamina D. A má absorção de cálcio associada aos baixos valores de vitamina D leva a um aumento do PTH, em resposta a hipocalcemia. O aumento do PTH estimula o aumento renal da enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase que converte a 25-OH vitamina D em 1,25 dihidrovitamina D. Por sua vez, a vitamina D aumenta absorção intestinal de cálcio. A elevação do PTH leva a um aumento do *turnover* ósseo, porém, a reabsorção é mais rápida que a neoformação, resultando em perda óssea.<sup>4</sup> Mas mesmo sem haver deficiência de vitamina D, é bem estabelecido que o excesso de PTH está associado à perda óssea pela ativação dos osteoclastos que removerem cálcio e outros minerais do osso. O hiperparatireoidismo relaciona-se à redução da massa mineral óssea em pacientes com DC até mesmo em dieta isenta de glúten.<sup>1,2,7</sup>

Alguns trabalhos da literatura estudaram a relação do PTH na DC na pediatria. Já foram descritos valores aumentados de PTH ao diagnóstico da DC comparados aos controles, com sua posterior redução após instituição da dieta.<sup>14,48</sup> Apesar de não ter sido observada diferença estatística, alguns autores



observaram valores aumentados de PTH em algumas crianças não tratadas.<sup>9,13</sup> Já *Sdepanian et al* observaram valores adequados de PTH, comparados aos controles, em crianças e adolescentes em dieta.<sup>34</sup> Achados semelhantes foram citados por *Mora et al*.<sup>11,50</sup> Mas outros estudos indicaram que o PTH pode não ser atingido assim como ocorre com a vitamina D. *Tau et al* não encontram diferenças entre crianças com diagnóstico recente de DC e em dieta.<sup>47</sup>

Os exames laboratoriais de maneira geral não tem boa correlação com a massa óssea. Por isso, métodos que avaliam a densidade mineral são indicados.<sup>44</sup> A DXA tem sido mais rotineiramente usada para esse fim.<sup>45,46</sup> Mas o presente estudo utilizou a osteossonografia que tem surgido como modalidade de avaliação, inclusive já aprovada pela *United States Food and Drug Administration*. As vantagens do método são: utilizar um equipamento portátil, não invasivo, barato, de rápida realização e livre de radiação (fator importante especialmente para crianças). Estudos têm demonstrado boa correlação com a DXA (coeficiente de relação  $r=0,67$  a  $0,82$ ).<sup>8,18,27,54,55,56,57</sup>

O tecido ósseo pode ser estudado por meio das medidas da velocidade do ultrassom no osso, sendo a osteossonografia um método de ultrassom quantitativo (QSU - *Quantitative Ultrasound Method*). A QSU fornece informações da estrutura do osso e suas propriedades elásticas.<sup>26</sup> Ela basea-se no princípio de que a velocidade com a qual o ultrassom propaga-se no osso é determinada pela sua densidade de massa e sua elasticidade.<sup>8</sup> No presente estudo, ela foi medida na porção distal da diáfise da falange proximal, na proximidade dos côndilos. Mas ela pode também ser realizada no calcânhar, rádio, tíbia e patela.<sup>27</sup> A realização das medidas nas falanges é interessante em pacientes com DC, pois o hiperparatireoidismo envolvido na fisiopatologia da osteopatia acomete especialmente a região cortical óssea.<sup>8</sup>

As principais variáveis avaliadas pela osteossonografia são a ADSoS e o BTT. É estimado que os valores de normalidade da QSU sejam padronizados entre as populações, independentemente da constituição genética. Essa semelhança foi descrita em um estudo brasileiro com 1356 escolares, de ambos os gêneros. Os valores descritos foram semelhantes aos italianos - utilizados como padrão pelo aparelho de ambos os estudos.<sup>58</sup>

Alguns estudos na faixa etária pediátrica, utilizando a osteossonografia na DC já foram realizados.<sup>8,18,26,58</sup> *Hartman et al* avaliaram crianças com e sem dieta

de exclusão por meio da DXA e da osteossonografia. Segundo estes autores, a massa óssea estava melhor no grupo em dieta e a osteossonografia foi capaz de fornecer mais informações que a DXA.<sup>18</sup> *Pedrera et al* observaram semelhanças de parâmetros em crianças com DC em dieta em relação ao grupo controle, porém com ingestão alimentar superior no primeiro grupo.<sup>8</sup> Já *Valerio et al* descreveram que a massa óssea em pacientes com DC e diabetes tipo 1, em dieta, é comparável a do grupo controle de crianças com diabetes. A não adesão à dieta foi associada à osteopenia.<sup>26</sup> *Baroncelli et al* estudaram crianças e adolescentes com diversas doenças que podem afetar os ossos, incluindo a DC. Foi feita comparação da QSU com a DXA e houve boa correlação entre os métodos.<sup>57</sup>

A instituição de dieta isenta de glúten, adequada e prolongada, contribui para a recuperação da densidade óssea, especialmente se iniciada na infância e adolescência. Mas há dúvidas se o pico de massa óssea ideal é alcançado e sustentado como ocorre em pessoas saudáveis.<sup>1,3,7</sup> O presente estudo observou parâmetros adequados de osteossonografia para todos os pacientes com DC em dieta (média de 66 meses, DP $\pm$  31) e os resultados foram semelhantes ao do grupo controle. Outros estudos em crianças e adolescentes obtiveram resultados semelhantes em pacientes em dieta por um ano e controle avaliados por meio da DXA.<sup>9,10,11,12</sup> O efeito positivo de um tempo maior de dieta (média 8.6 anos) também foi demonstrado por *Pedrera et al*.<sup>8</sup>

Entretanto, as evidências de *Kalayci et al* foram diferentes. Foi observado que após um ano de dieta, não houve recuperação completa da massa óssea em comparação aos controles.<sup>13</sup> Em outro estudo, após três anos de dieta, crianças e adolescentes, apesar de apresentarem densidade mineral comparada aos controles, apresentaram tamanho ósseo reduzido.<sup>14</sup> Já *Greenhill* observou diminuição da massa óssea ao diagnóstico e um ano após início da dieta em crianças e adolescentes, mesmo naqueles com crescimento aparentemente adequado.<sup>15</sup> *Mager et al* também descreveram risco aumentado de comprometimento da saúde óssea ao diagnóstico e um ano após dieta em crianças e adolescentes associado à redução de vitamina D e K.<sup>16</sup> *Leiva et al* observaram, em crianças, risco aumentado de osteoporose mesmo em dieta isenta de glúten em duração média de 69,8 meses.<sup>17</sup> Já *Margoni et al* concluíram que dois anos de dieta não são suficientes para normalização da massa óssea.<sup>48</sup>

A idade do início da dieta isenta de glúten influencia na recuperação óssea. Quanto mais precoce o diagnóstico, maior a chance de recuperação.<sup>15,47,59,60</sup> No presente estudo, a média de idade ao diagnóstico foi de 5,19 anos (DP±4,41). Houve uma correlação positiva entre o tempo de diagnóstico e o valor absoluto do ADSoS. Um estudo desenvolvido em Recife, por *Motta et al*, observou densidade óssea menor em crianças com diagnóstico de DC mais tardio.<sup>32</sup> A idade superior a dois anos ao diagnóstico e tempo de dieta de um ano também foram fatores de risco para massa óssea avaliados por *Scotta et al*.<sup>60</sup> Outro estudo mostrou que o diagnóstico e instituição da idade antes dos quatro anos relacionam-se a maior ganho de massa óssea.<sup>47</sup>

A recuperação da densidade mineral óssea comporta-se de maneira diferente entre crianças e adolescentes. Em um estudo realizado em São Paulo, por *Sdepanian et al*, as medidas da massa óssea dos adolescentes (média de idade 14,3±1,4) foram inferiores aos controles, apesar de não terem sido observadas diferenças entre crianças com DC (média 7,6 ±1,4 anos) e controles. O início da dieta foi mais tardio nestes adolescentes, o que pode ter contribuído para maior prejuízo ósseo neste grupo.<sup>34</sup> Outro estudo demonstrou diminuição da densidade óssea em adolescentes com DC em dieta em relação aos controles.<sup>59</sup> Em uma segunda avaliação após quatro anos neste mesmo estudo, feita em 11 destes pacientes, observou-se recuperação da massa óssea comparável a dos controles.<sup>61</sup> Esses achados reforçam a necessidade do diagnóstico e tratamento precoces na DC, para prevenção do dano ósseo.<sup>34,59</sup>

O diagnóstico da DC tem sido mais precoce nos últimos anos, incluindo pacientes com manifestações atípicas da doença e, até mesmo, sem manifestações digestivas e/ou comprometimento do estado nutricional.<sup>7,19,20,31</sup> Esse fato pode ter contribuído para a ausência de comprometimento ósseo dos participantes da pesquisa. Trinta e cinco por cento dos participantes do presente estudo não apresentavam, ao diagnóstico, comprometimento nutricional importante.

Diferença entre os parâmetros da osteossonografia nos grupos DC, sem e com tratamento, não foram observados no presente estudo, porém o número de pacientes não aderentes à dieta foi pequeno, já que este não era inicialmente o objetivo do estudo. Este fato pode ter comprometido a análise dos resultados. Efeitos negativos da transgressão à dieta já foram estudadas em crianças e

adolescentes.<sup>31,26,35</sup> *Blazina et al* demonstraram prejuízo da massa óssea em crianças e adolescentes com DC, independente do tratamento, porém com risco aumentado no grupo que não seguia a dieta.<sup>35</sup> A manutenção da dieta e sua correlação positiva com a melhora da massa óssea em crianças com DC também foi enfatizada nos estudos de *Motta et al* e *Heyman et al*.<sup>32,62</sup>

Efeitos prolongados da dieta sem glúten no metabolismo ósseo ainda são pouco estudados. *Mora et al* demonstraram que um tempo superior a cinco anos de dieta assegurou uma mineralização e *turnover* ósseo normal em crianças e adolescentes, especialmente naqueles em que o diagnóstico foi feito antes da puberdade.<sup>50</sup> Porém, avaliações sequenciais ainda são necessárias especialmente pelos resultados dos estudos em adultos. Apesar de em um primeiro momento ocorrer uma melhora da massa óssea após início da dieta, especialmente após dois anos, esta não parece ser suficiente para restabelecer a normalidade em relação aos controles nessa faixa etária.<sup>2,4,7,46</sup> Mesmo quando a dieta sem glúten é adequadamente seguida, a grande maioria destes pacientes apresentam comprometimento ósseo.<sup>2,4,7,46</sup>

A limitação do presente estudo refere-se ao número limitado de participantes que compromete o poder da análise e a extrapolação dos resultados. Foram incluídos todos os pacientes do serviço de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. Dentre os pontos fortes destaca-se a avaliação de fatores que interferem na massa óssea (ingestão de cálcio, atividade física, exposição solar, valor da 25-OH vitamina D, PTH e cálcio) e inclusão de um grupo controle constituído por crianças pareadas por idade, gênero e estágio puberal, o que possibilitou o estudo comparativo.

## 2.6 Conclusão

Criança e adolescentes com DC, em dieta de restrição de glúten há pelo menos um ano, apresentam densidade mineral adequada à osteossinografia. Mas o seguimento da massa óssea, em longo prazo, faz-se necessário para a prevenção da osteopatia na vida adulta. A recomendação de alimentação rica em cálcio e vitamina D, a exposição solar e a prática regular de atividade física são fundamentais para as crianças e adolescentes com DC.

## Referências bibliográficas

1. Larussa T, Suraci E, Nazionale I, Abenavoli L, Imeneo M, Lizza F. Bone mineralization in celiac disease. *Gastroenterol Res Pract*. 2012; 2012: 19802.
2. Lucendo AJ, García-Manzanares A. Bone mineral density in adult coeliac disease: An updated review. *Rev Esp Enferm Dig*. 2013 May; 105(3): 154-162.
3. Krupa-Kozak U. Pathologic bone alterations in celiac disease: Etiology, epidemiology, and treatment. *Nutrition*. 2014 Jan; 30(1): 16-24.
4. Di Stefano M, Mengoli C, Bergonzi M, Corazza GR. Bone mass and mineral metabolism alterations in adult celiac disease: pathophysiology and clinical approach. *Nutrients*. 2013 Nov 22; 5(11): 4786-99.
5. Corazza GR, Di Stefano M, Mauriño E, Bai JC. Bones in coeliac disease: diagnosis and treatment. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2005 Jun; 19(3): 453-65.
6. García-Manzanares A, Tenias JM, Lucendo AJ. Bone mineral density directly correlates with duodenal Marsh stage in newly diagnosed adult celiac patients. *Scand J Gastroenterol*. 2012 Sep; 47(8-9): 927-36.
7. Bianchi ML, Bardella MT. Bone and celiac disease. *Calcif Tissue Int*. 2002 Dec; 71(6): 465-71.
8. Pedrera JD, López MJ, Canal ML, Costa C, Mañas P, Hernández ER *et al*. Quantitative phalangeal bone ultrasound is normal after long-term gluten-free diet in young coeliac patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2001 Oct; 13(10): 1169-73.
9. Kavak US1, Yüce A, Koçak N, Demir H, Saltik IN, Gürakan F, *et al*. Bone mineral density in children with untreated and treated celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003 Oct; 37(4): 434-6.
10. Barera G, Mora S, Brambilla P, Ricotti A, Menni L, Beccio S, *et al*. Body composition in children with celiac disease and the effects of a gluten-free diet: a prospective case-control study. *Am J Clin Nutr*. 2000 Jul; 72(1): 71-5.
11. Mora S, Barera G, Beccio S, Menni L, Proverbio MC, Bianchi C, *et al*. A prospective, longitudinal study of the long-term effect of treatment on bone density in children with celiac disease. *J Pediatr*. 2001 Oct; 139(4): 516-21.
12. Mora S, Barera G, Ricotti A, Weber G, Bianchi C, Chiumello G. Reversal of low bone density with a gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease. *Am J Clin Nutr*. 1998 Mar ;67(3): 477-81.
13. Kalayci AG, Kansu A, Girgin N, Kucuk O, Aras G. Bone mineral density and importance of a gluten-free diet in patients with celiac disease in childhood. *Pediatrics*. 2001 Nov; 108(5): E89.

14. Szathmári M, Tulassay T, Arató A, Bodánszky H, Szabó A, Tulassay Z. Bone mineral content and density in asymptomatic children with coeliac disease on a gluten-free diet. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2001 Apr; 13(4): 419-24.
15. Greenhill C. Celiac disease: Lack of vitamins D and K affects bone health in celiac disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011 Nov 8; 8(12): 660.
16. Mager DR, Qiao J, Turner J. Vitamin D and K status influences bone mineral density and bone accrual in children and adolescents with celiac disease. *Eur J Clin Nutr*. 2012 Apr; 66(4): 488-95.
17. Leiva L, Burrows R, Ríos G, Bergenfried C, Larrain F, Wenger J, *et al*. Bone mass in celiac patients. *Arch Latinoam Nutr*. 1996 Jun; 46(2): 128-31. Spanish.
18. Hartman C, Hino B, Lerner A, Eshach-Adiv O, Berkowitz D, Shaoul R, *et al*. Bone quantitative ultrasound and bone mineral density in children with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004 Nov; 39(5): 504-10.
19. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, *et al*; North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005 Jan; 40(1): 1-19.
20. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R *et al*; ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis; ESPGHAN Gastroenterology Committee. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012 Jan; 54(1): 136-60.
21. World Health Organization [Internet]. Available from: <http://www.who.int/childgrowth/standards/en/>
22. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, editors. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D* Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
23. 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 Oct; 29(10): 1344-9.
24. da Silva RC, Malina RM. Level of physical activity in adolescents from Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. *Cad Saude Publica*. 2000 Oct-Dec; 16(4): 1091-7. Portuguese.
25. 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 Feb; 144(2): 217-22.

26. Valerio G, Spadaro R, Iafusco D, Lombardi F, Del Puente A, Esposito A *et al.* The influence of gluten free diet on quantitative ultrasound of proximal phalanges in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus and celiac disease. *Bone*. 2008 Aug; 43(2): 322-6.
27. Baroncelli GI. Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application. *Pediatr Res*. 2008 Mar; 63(3): 220-8.
28. 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 Dec; 4(6): 1392-1396.
29. Stazi AV, Trinti B. Risk of osteoporosis in endocrine disorders and celiac disease. *Ann Ist Super Sanita*. 2007; 43(4): 430-3.
30. Hollon JR1, Cureton PA, Martin ML, Puppa EL, Fasano A. Trace gluten contamination may play a role in mucosal and clinical recovery in a subgroup of diet-adherent non-responsive celiac disease patients. *BMC Gastroenterol*. 2013 Feb 28;13:40.
31. García-Manzanares A, Lucendo AJ. Nutritional and dietary aspects of celiac disease. *Nutr Clin Pract*. 2011 Apr; 26(2): 163-73.
32. Motta MEFA, Faria MEN, Silva GAP. Prevalence of low bone mineral density in children and adolescents with celiac disease under treatment. *São Paulo Med J*. 2009 Sep; 127(5): 278-82.
33. Pallav K1, Leffler DA, Bennett M, Tariq S, Xu H, Kabbani T, *et al.* Open conformation tissue transglutaminase testing for celiac dietary assessment. *Dig Liver Dis*. 2012 May; 44(5): 375-8.
34. Sdepanian VL, de Miranda Carvalho CN, de Moraes MB, Colugnati FA, Fagundes-Neto U. Bone mineral density of the lumbar spine in children and adolescents with celiac disease on a gluten-free diet in São Paulo, Brazil. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003 Nov; 37(5): 571-6.
35. Blazina S, Bratanic N, Campa AS, Blagus R, Orel R. Bone mineral density and importance of strict gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease. *Bone*. 2010 Sep; 47(3): 598-603.
36. Veiga GV, Costa RS, Araújo MC, Souza Ade M, Bezerra IN, Barbosa FS, *et al.* Inadequate nutrient intake in Brazilian adolescents. *Rev Saude Publica*. 2013 Feb; 47 Suppl 1:212S-21S.
37. Martini LA1, 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-São Paulo. *Nutrition*. 2013 Jun; 29(6): 845-50.

38. Bueno MB1, Fisberg RM, Maximino P, Rodrigues Gde P, Fisberg M. Nutritional risk among Brazilian children 2 to 6 years old: a multicenter study. *Nutrition*. 2013 Feb; 29(2): 405-10.
39. Cosenza L1, 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 May 23; 13:86.
40. Ortega RM1, López-Sobaler AM, Jiménez Ortega AI, Navia Lombán B, Ruiz-Roso Calvo de Mora B, Rodríguez-Rodríguez E *et al*; Food sources and average intake of calcium in a representative sample of Spanish schoolchildren. *Nutr Hosp*. 2012 May-Jun; 27(3): 715-23. Spanish.
41. Passananti V, Santonicola A, Bucci C, Andreozzi P, Ranaudo A, Di Giacomo DV *et al*. Bone mass in women with celiac disease: role of exercise and gluten-free diet. *Dig Liver Dis*. 2012 May; 44(5): 379-83.
42. Hosseini-nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc*. 2013 Jul; 88(7): 720-55.
43. Shin YH, Shin HJ, Lee YJ. Vitamin D status and childhood health. *Korean J Pediatr*. 2013 Oct; 56(10): 417-23.
44. Mora S. Celiac disease: a bone perspective. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003 Oct; 37(4): 409-11.
45. American Gastroenterological Association medical position statement: guidelines on osteoporosis in gastrointestinal diseases. *Gastroenterology*. 2003 Mar; 124(3): 791-4.
46. Fouda MA, Khan AA, Sultan MS, Rios LP, McAssey K, Armstrong D. Evaluation and management of skeletal health in celiac disease: position statement. *Can J Gastroenterol*. 2012 Nov; 26(11): 819-29.
47. Tau C, Mautalen C, De Rosa S, Roca A, Valenzuela X. Bone mineral density in children with celiac disease. Effect of a Gluten-free diet. *Eur J Clin Nutr*. 2006 Mar; 60(3): 358-63.
48. Margoni D, Chouliaras G, Ducas G, Voskaki I, Voutsas N, Papadopoulou A *et al*. Bone health in children with celiac disease assessed by dual x-ray absorptiometry: effect of gluten-free diet and predictive value of serum biochemical indices. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012 May; 54(5): 680-4.
49. McCormick RK. Osteoporosis: integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility. *Altern Med Rev*. 2007 Jun; 12(2): 113-45.



50. Mora S, Barera S, Beccio S, Proverbio MC, Weber G, Bianchi C *et al.* Bone density and bone metabolism are normal after long-term gluten-free diet in young celiac patients. *Am J Gastroenterol* 1999 Feb; 94(2): 398-403.
51. 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. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011; 96(7): 1911-30.
52. 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. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96(1): 53-8.
53. Lerner A, Shapira Y, Agmon-Levin N, Pacht A, Ben-Ami Shor D, López HM *et al.* The clinical significance of 25OH-Vitamin D status in celiac disease. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2012 Jun; 42(3): 322-30.
54. Valerio G, del Puente A, Buono P, Esposito A, Zanatta M, Mozzillo E, *et al.* Quantitative ultrasound of proximal phalanges in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2004 Jun; 64(3): 161-6.
55. 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 May; 49(5): 713-8.
56. Halaba Z, Pluskiewicz W. The assessment of development of bone mass in children by quantitative ultrasound through the proximal phalanges of the hand. *Ultrasound Med Biol*. 1997; 23(9): 1331-5.
57. 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 Jul; 54(1): 125-36.
58. Ribeiro RR, Santos-Ribeiro KD, Guerra-Junior G, Barros-Filho A de A. Comparison of bone quantity by ultrasound measurements of phalanges between white and black children living in Paraná, Brazil, with Europeans. *Braz J Med Biol Res*. 2010 Oct; 43(10): 976-81.
59. Balcı TA, Koç ZP, Mitil HÁ. Bone mineral densitometry findings of children with newly diagnosed celiac disease. *Mol Imaging Radionucl Ther*. 2011 Aug; 20(2): 59-62.
60. Scotta MS, Salvatore S, Salvatoni A, De Amici M, Ghiringhelli D, Brogginini M, *et al.* Bone mineralization and body composition in young patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 1997 Aug; 92(8): 1331-4.

61. Carbone MC, Pitzalis G, Ferri M, Nenna R, Thanasi E, Andreoli A, *et al.* Body composition in coeliac disease adolescents on a gluten-free diet: a longitudinal study. *Acta Diabetol.* 2003 Oct; 40 Suppl 1: S171-3.
62. Heyman R, Guggenbuhl P, Corbel A, Bridoux-Henno L, Tourtelier Y, Balençon-Morival M *et al.* Effect of a gluten-free diet on bone mineral density in children with celiac disease. *Gastroenterol Clin Biol.* 2009 Feb; 33(2): 109-14.

### **3 ARTIGO ORIGINAL**

#### **MARCADORES DO *TURNOVER* ÓSSEO EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DOENÇA CELÍACA**

## Marcadores do *turnover* ósseo em crianças e adolescentes com doença celíaca

### Resumo

**Introdução:** A doença celíaca (DC) pode levar à perda mineral óssea devido à má absorção de cálcio e vitamina D, hiperparatireoidismo secundário, inflamação local e sistêmica. Existem outros mecanismos envolvidos, ainda pouco conhecidos. São eles: o receptor ativador de fator nuclear kappa  $\beta$  (*Receptor Activated Nuclear Factor Kappa  $\beta$  - RANK*), seu ligante RANKL (*Receptor Activated Nuclear Factor Kappa  $\beta$  Ligand*), a osteoprotegerina (OPG), a osteopontina (OPN) e o fator de crescimento do fibroblasto - 23 (*Fibroblast Growth Factor 23- FGF-23*).

**Objetivo:** Comparar as dosagens destes marcadores em três grupos de crianças e adolescentes: um grupo de pacientes com DC em tratamento (dieta de exclusão do glúten), outro DC sem tratamento e um grupo controle.

**Métodos:** Foram selecionados 24 participantes com diagnóstico de DC em tratamento há pelo menos um ano, sete com DC sem tratamento e 31 controles. Foram excluídos os pacientes em uso de medicamentos, vitaminas e suplementos alimentares. Todos foram submetidos à avaliação médica, nutricional, laboratorial e osteossinografia.

**Resultados:** Não houve diferença entre os grupos em relação à ingestão de cálcio, exposição solar, atividade física, dados antropométricos e densidade mineral óssea avaliada pela osteossinografia, assim como, nos marcadores de reabsorção óssea OPG, OPN e FGF-23.

**Conclusão:** Crianças e adolescentes com DC, em dieta de restrição de glúten há pelo menos um ano ou sem tratamento, não apresentam diferenças nos níveis plasmáticos dos marcadores de reabsorção óssea.

**Palavras chaves:** doença celíaca, crianças, RANK, osteopontina, osteoprotegerina, FGF23.

## **Bone turnover markers in children and adolescents with celiac disease**

### **Abstract**

**Introduction:** Celiac disease (CD) can lead to bone mineral loss due to malabsorption of calcium, vitamin D, secondary hyperparathyroidism, systemic and local inflammation. There are other factors involved in this process. However, so far, little is known of their role in relation to celiac disease. These are: the receptor activated nuclear factor (RANK), its ligand RANKL (receptor activated nuclear factor kappa  $\beta$  ligand), osteoprotegerin (OPG), osteopontin (OPN) and fibroblast growth factor 23 (FGF-23).

**Objective:** The aim of this study is to compare bone turnover markers in three groups of children and adolescents: patients with celiac disease on gluten-free diet, with celiac disease without gluten exclusion and control group.

**Methods:** It was selected 24 participants with celiac disease adherent to gluten-free diet for at least one year, seven with celiac disease without gluten-free diet and 31 controls. Patients using medications, vitamins and dietary supplements were excluded. All patients underwent medical, nutritional, bone quantitative ultrasound and laboratory evaluation.

**Results:** There was no difference between groups in relation to calcium intake, sun exposure, physical activity, anthropometric data, bone mineral density, assessed by quantitative ultrasound and bone turnover markers.

**Conclusion:** Children and adolescents with CD with a gluten-free diet for at least one year or with CD without treatment, show no differences in plasma levels of bone turnover markers.

**Key words:** celiac disease, children, RANK, osteopontin, osteoprotegerin and FGF23.

### 3.1 Introdução

O osso é um tecido mineral constituído de uma matriz orgânica de fibras de colágeno dispersa em uma massa inorgânica de minerais - hidroxiapatita de cálcio.<sup>1</sup> A maior parte desta massa é adquirida nas primeiras décadas de vida, conseqüentemente, qualquer alteração nutricional ou doença crônica durante esse período acarreta risco aumentado de osteopatia futura.<sup>2,3,4</sup> A doença celíaca (DC) pode levar à perda mineral óssea em crianças e adultos devido a diversos mecanismos como: má absorção de cálcio e vitamina D, hiperparatireoidismo secundário, inflamação local e sistêmica.<sup>1,2,3,4,5</sup> A dieta isenta de glúten reduz o impacto para o osso mas, apesar de melhorá-lo, raramente parece normalizá-lo.<sup>6</sup>

Existem outros fatores importantes no processo de remodelação óssea na DC. São eles: o receptor ativador de fator nuclear kappa  $\beta$  (*Receptor Activated Nuclear Factor Kappa  $\beta$ - RANK*), seu ligante RANKL (*Receptor Activated Nuclear Factor Kappa  $\beta$  Ligand*) e a osteoprotegerina (OPG). O RANK é um receptor de superfície celular nos osteoclastos e seus precursores. Já o RANKL é produzido pelos osteoblastos. A ligação dos dois resulta na diferenciação do osteoclasto e reabsorção óssea. O processo é regulado pela produção do antagonista OPG que previne a ligação do RANK ao RANKL.<sup>4,7,8,9</sup> Em pacientes com DC em tratamento já foi demonstrado um aumento de OPG e RANKL, com uma relação OPG/RANKL inferior aos controles e com relação positiva com a densidade óssea.<sup>3,5,7,10</sup> Apesar da função da OPG na DC não estar bem elucidada as evidências sugerem que exista um mecanismo protetor ósseo.<sup>3</sup>

Outros fatores associados à formação óssea têm sido citados, mas ainda não estudados na DC. A osteopotina (OPN) é uma glicoproteína que possui valores aumentados em tecidos mineralizados.<sup>11,12</sup> Sua função na mineralização óssea não é definida, mas parece ter relação com a modulação da formação da hidroxiapatita.<sup>12,13</sup> Já o fator de crescimento do fibroblasto 23 (*Fibroblast Growth factor 23- FGF-23*) é um regulador do metabolismo do fósforo e da vitamina D.<sup>14,15</sup>

O presente estudo tem como objetivo comparar os valores plasmáticos de OPG, OPN e FGF-23 em três grupos de crianças e adolescentes: um grupo de pacientes com DC em tratamento, outro sem tratamento e um grupo controle.

## 3.2 Métodos

A avaliação dos valores de OPG, OPN e FGF-23 foi realizada em três grupos de crianças e adolescentes: pacientes em tratamento (dieta isenta de glúten) há pelo menos um ano, pacientes com DC sem tratamento (não aderentes à dieta de exclusão) e controles. A coleta foi realizada de julho a setembro de 2013. As análises foram feitas em agosto de 2014.

### 3.2.1 Seleção da amostra

Os pacientes com DC foram selecionados por busca ativa no Ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC - UFMG) e os controles do serviço de Pediatria do ambulatório Bias Fortes, da mesma instituição.

Os critérios de inclusão para o grupo com DC foram:

- Crianças e adolescentes de ambos os gêneros com idade entre 4 e 18 anos;
- Diagnóstico de DC de acordo com biópsia intestinal, segundo critérios internacionais<sup>16,17</sup>

Os critérios de exclusão para o grupo com DC foram:

- Estar em uso de medicação que pudesse interferir na absorção do cálcio e vitamina D ou suplementação destes;
- Apresentar outra doença crônica (renal, cardíaca, hepática, gastrointestinal, diabetes, hipotireoidismo ou doença associada ao uso crônico de corticoide).

Esses pacientes foram divididos em dois grupos, de acordo com adesão ou não à dieta. O tempo mínimo de dieta de exclusão exigido foi de um ano.

Os critérios de inclusão para o grupo controle foram:

- Idade entre 4 e 18 anos (idade e gênero pareados com o grupo com DC);
- Não estar em uso de medicamentos, vitaminas e suplementos alimentares.

Os critérios de exclusão para o grupo controle foram:

- Estar em uso de medicação que pudesse interferir na absorção do cálcio e vitamina D ou suplementação destes;
- Apresentar baixo peso, baixa estatura, sobrepeso ou obesidade de acordo com as curvas da Organização Mundial de Saúde;<sup>18</sup>
- Apresentar qualquer doença crônica ou uso crônico de medicamentos.

- Apresentar sorologia positiva (antitransglutaminase IgA e IgG) para DC.

### 3.2.2 Protocolo

Depois de aplicados os critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados 31 pacientes com DC (24 em tratamento e sete sem tratamento) e 31 controles. Todos seguiram o mesmo protocolo.

### 3.2.3 Avaliação laboratorial

Os participantes realizaram coleta de sangue pela manhã, em jejum de 12 horas, no Laboratório Central do HC -UFMG. Foram realizadas as seguintes medidas dos níveis plasmáticos: cálcio, fósforo, 25-OH vitamina D, paratormônio (PTH), glicemia de jejum, fosfatase alcalina, alanina aminotransaminase (ALT) e aspartato aminotransaminase (AST). Todas as coletas foram realizadas durante o inverno, para que não houvesse diferença na avaliação da vitamina D, se coletados em diferentes épocas do ano. Além destes exames, os pacientes com DC realizaram a dosagem da antitransglutaminase tecidual IgA (Elisa), como uma das formas de avaliar a transgressão à dieta.<sup>17</sup> Não havia nenhum participante portador de deficiência de IgA. Os controles também realizaram sorologia para DC (antitransglutaminase IgA e IgG) para exclusão da doença. Parte desta amostra foi processada e congelada.

Posteriormente, as amostras do soro foram descongeladas para avaliação dos valores das proteínas do metabolismo ósseo OPG e OPN, pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) sanduíche, utilizando-se *kits R&D Systems (Minneapolis, MN, EUA)*. A análise do fator de crescimento do FGF-23 foi realizada utilizando-se o *kit Human FGF-23 (c-Term)*, (*ELISA kit Immutopics Inc*), segundo protocolo determinado pelo fabricante.

Para as análises de OPG e OPN a cada poço da placa de ELISA foram adicionados 100µL 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, à 4<sup>o</sup> C. Os anticorpos não aderidos nas placas foram descartados por inversão e lavagem em PBS–Tween 0,1% (*Sigma-Aldrich, Missouri, EUA*). Em seguida, as placas foram bloqueadas com uma solução



contendo albumina de soro bovino (BSA) 1% (*Sigma-Aldrich*), durante duas horas à temperatura ambiente (200 µL/poço). Após nova lavagem das placas (PBS–Tween 0,1%), em cada poço foi adicionado 100 µL da amostra (controle, DC sem e DC em tratamento) ou da proteína padrão. As placas foram novamente incubadas, por pelo menos 12 horas, à 4°C e, em seguida, lavadas (PBS–Tween 0,1%). Após a 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 às placas 100 µL/poço de estreptavidina conjugada com peroxidase, que foram incubadas por 30 minutos, à temperatura ambiente. Finalmente, após nova lavagem (PBS–Tween 0,1%), adicionou-se às placas o cromógeno Ø-fenileno-diamina (OPD) (*Sigma-Aldrich*), 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  $\lambda$  de 490 nm.

Para a dosagem de FGF-23, foram adicionados 100µl do padrão, controle ou amostras a cada poço, à placa já conjugada com o anticorpo de captura. Em seguida, 50 µl de solução contendo anticorpo biotinilado e estreptavidina foram adicionados a todos os poços na proporção de 1:1. A placa foi selada e incubada por três horas. Após esse tempo a placa foi lavada cinco vezes, com 350 µl de solução de lavagem. Adicionou-se, em seguida, à placa, 150 µl da solução de substrato tetrametilbenzidina (TMB) com peróxido de hidrogênio. A mesma foi incubada por 30 minutos a temperatura ambiente. Transcorrido o tempo, a leitura da intensidade de marcação foi realizada em espectrofotômetro no  $\lambda$  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  $\lambda$  de 450nm.

Todas as leituras da intensidade de marcação foram realizadas em leitor de ELISA, acoplado ao software SOFTmax Pro – versão 2.2.1 (*Sunyvale, CA, USA*). Essa análise foi realizada no Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica - Faculdade de Medicina/UFMG.

### 3.2.4 Avaliação clínica, nutricional, atividade física, exposição solar e osteossomografia

Todos os participantes foram submetidos ao exame clínico. Os seguintes parâmetros foram avaliados: pressão arterial, estágio puberal (Tanner), peso, estatura e índice de massa corporal (IMC). As últimas três medidas foram classificadas, posteriormente, no escore Z, pelos programas Who Antro v.3.2.2 e Who Anthro plus v.1.0.4. Para avaliação da classe econômica, utilizou-se o questionário da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. (ABEP) - Critério de classificação econômica do Brasil, 2012.<sup>19</sup>

A avaliação nutricional foi realizada por meio do questionário de frequência alimentar, recordatório do dia anterior e de três dias não consecutivos, posteriores à entrevista clínica. A análise das calorias e ingestão de cálcio total foi feita através do programa DietPro 5i.<sup>®</sup> A recomendação dietética permitida (RDA - *Recommended Dietary Allowance*) foi baseada no *Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium* (2011). Ou seja, para crianças de quatro a oito anos é recomendada a ingestão de 1000mg de cálcio ao dia, aumentando para 1300mg, de nove a 18 anos.<sup>20</sup>

A atividade física foi avaliada por meio do questionário internacional de atividade física (*Internacional Physical Activity Questionnaire - IPAQ*) após tradução e modificação, excluindo as atividades esportivas não praticadas no Brasil - (Anexo 1). O questionário 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 um a cinco e o escore final é obtido pela média do valor obtido nas questões, representando o intervalo desde muito sedentário (1) a muito ativo (5). Ativos são aqueles que têm escore  $\geq 3$ , enquanto sedentários são os indivíduos com escores  $< 3$ .<sup>21,22</sup>

A exposição solar foi estimada por meio de questionário específico adaptado (Anexo 2). Avaliou-se a exposição em horas por semana, em horários distintos: de 10 as 16 horas e no restante do dia. As medidas de proteção solar foram avaliadas por meio de um escore baseado na resposta a um questionário padronizado. O escore varia de um a cinco, sendo considerada suficiente a proteção solar com valores superiores a três.<sup>23</sup>

A transgressão à dieta, nos pacientes com DC, foi avaliada pelo questionário de frequência, recordatório alimentar e a dosagem da antitransglutaminase tecidual IgA.

A avaliação da densidade mineral óssea foi feita por meio da osteossonografia de interfalanges proximais, na clínica de radiologia “CEU Diagnósticos”, sempre pela mesma examinadora, utilizando o mesmo aparelho *DBM Sonic Bone Profiler, Model BP01, IGEA Clinical Biophysics, Carpi, Modena, Itália*. Os parâmetros obtidos foram: ADSoS (*Amplitude-dependent Speed of Sound*) e BTT (*Bone Transmission Time*). Eles são obtidos a partir da média de 96 registros dos quatro dedos. A média das medidas é calculada e expressa em escore Z para idade e altura pelo próprio aparelho.

A ADSoS é a velocidade na qual o ultrassom atravessa a falange e é calculada dividindo-se o tempo obtido pelo primeiro sinal a ser recebido com a amplitude mínima pré determinada de 2mV, pela distância entre os duas ondas. Envolve a medida do osso e do tecido mole. Quanto maior o valor, maior será a quantidade óssea. Já o BTT é o intervalo entre o primeiro sinal recebido e o sinal que é propagado somente pelo tecido mole. Com isso, o impacto do tecido mole deverá ser mínimo, sendo essa medida mais fidedigna. Valores inferiores à -2 DP são considerados como baixa densidade óssea.<sup>24</sup>

### **3.2.5 Análise estatística:**

Utilizou-se o *software Statistical Package for Social Sciences (SPSS)® 20.0* para as análises estatísticas dos dados.

As variáveis avaliadas foram comparadas entre os grupos DC em tratamento, DC sem tratamento e controle sadio. Inicialmente, realizou-se a equivalência das características entre os grupos (idade, gênero, IMC). Foi comparada a ingestão de cálcio, escore de atividade física, exposição solar, parâmetros fornecidos pela osteossonografia (ADSoS e BTT) e, finalmente, os exames laboratoriais, incluindo as proteínas do metabolismo ósseo.

As variáveis quantitativas foram descritas por média  $\pm$  desvio-padrão (DP), quando tinham distribuição normal e mediana (intervalo interquartil - IQR - *Interquartile range*), quando não houvesse. O teste de normalidade utilizado foi o Shapiro Wilks. Já para as comparações entre os grupos foram utilizados os testes

ANOVA, quando havia distribuição normal e variância constante (avaliado pelo teste de Levene) e Kruskal Wallis, quando não havia distribuição normal. Quando o resultado foi significativo ao nível de 0,05 utilizaram-se os testes de comparações múltiplas LSD (*Least Significance Difference*) quando havia distribuição normal e o teste de Mann Whitney, com correção de Bonferroni, quando não, assim o nível de significância foi de 0,017.

As variáveis qualitativas foram descritas pelas frequências absolutas e porcentagem. As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando-se os testes Qui-quadrado de Pearson assintótico, quando 20% dos valores esperados das caselas estavam entre um e cinco e 80% maiores ou igual a cinco. O Qui-quadrado de Pearson exato foi utilizado quando mais que 20% do valor esperado estava entre um e cinco. Foi utilizada a análise de resíduos quando a variável qualitativa tinha mais do que duas categorias e o resultado dos testes qui-quadrado foram significativos, para mostrar onde estava a diferença, isto é, resíduo padronizado  $>1,96$  ou resíduo padronizado  $<-1,96$ . O nível de significância utilizado foi de 0,05.

O cálculo do poder baseado no tamanho do efeito foi realizado por meio do software G power®, versão 3.1.9.2. O nível de significância foi de 0,05. Foram utilizados: tamanho de amostra, valores de média e DP encontrados no presente estudo e o teste ANOVA. O poder é considerado adequado quando acima de 0,8.

### **3.2.6 Aspectos éticos**

Todos os pacientes e/ou responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFMG (COEP-UFMG) - CAAE-12064913.4.0000.5149.

### **3.3 Resultados**

Sessenta e duas crianças e adolescentes participaram do estudo sendo 24 no grupo DC em tratamento, sete DC sem tratamento e 31 no grupo controle.

A tabela 1 mostra os dados da composição dos grupos em relação à idade, gênero, cor, classe social e IMC. Não houve diferença com significado estatístico

entre os grupos, em nenhuma das variáveis, incluindo a avaliação do estágio puberal.

Tabela 1 – Resultados da comparação das variáveis demográficas e antropométricas

<b>Variáveis</b>	<b>Controle</b> n=31	<b>DC sem tratamento</b> n=7	<b>DC em tratamento</b> n=24	<b>Valor-p</b>
<b>Idade</b> Média±DP	10,93±4,49	11,13±5,61	10,50±4,32	0,9201 <sup>1</sup>
<b>Gênero</b> Feminino Masculino	21 (50,0) 10 (50,0)	5 (11,9) 2 (10,0)	16 (38,1) 8 (40,0)	1,000 <sup>2</sup>
<b>Cor</b> Clara Parda Negra	5 (35,7) 25 (53,2) 1 (100,0)	2 (14,3) 5 (10,6) 0 (0,0)	7 (50,0) 17 (36,2) 0 (0,0)	0,632 <sup>2</sup>
<b>Classe social</b> A B1 e B2 C1 e C2	2 (25,0) 12 (42,9) 17 (65,4)	1 (12,5) 2 (7,1) 4 (15,4)	5 (62,5) 14 (50,0) 5 (19,2)	0,089 <sup>2</sup>
<b>Z-IMC</b> Mediana (IQR)	0 (1)	1 (1)	0 (1)	0,1753 <sup>3</sup>

1- ANOVA 2- Teste Qui-quadrado de Pearson exato 3- Teste Kruskal Wallis  
DP (Desvio Padrão) IQR (Intervalo Interquartil)

Entre os pacientes com DC, a média de idade ao diagnóstico foi de 5,19 anos (DP±4,41). Não houve diferença estatística entre os grupos DC sem e com tratamento na idade e tempo de diagnóstico da doença.

A tabela 2 mostra a avaliação da ingestão de cálcio, o percentual de RDA, escore de atividade física, exposição solar e avaliação do uso de medidas de proteção ao sol. Não houve diferença estatística entre eles em nenhuma variável analisada.

Para todos os grupos, observa-se uma ingestão de cálcio abaixo da recomendada e um predomínio do escore de atividade física abaixo do que é considerado ativo (<3).<sup>20,21,22</sup> A exposição solar foi adequada para todos os participantes da pesquisa com médias superiores aos 15-20 minutos diários recomendados.<sup>23,25</sup>

Tabela 2 – Resultados da comparação das variáveis: ingestão alimentar, atividade física, exposição solar e medidas de proteção

Variáveis	Controle n=31	DC sem tratamento n=7	DC em tratamento n=24	Valor-p	Poder
<b>Cálcio (mg/dia)</b> Mediana (IQR)	840 (494)	815 (562)	826,5 (1078)	0,822 <sup>1</sup>	0,0500 <sup>2</sup>
<b>%RDA</b> Mediana (IQR)	74,60(31,70)	78,70 (47,02)	71,80 (84,05)	0,880 <sup>1</sup>	0,0588 <sup>2</sup>
<b>Atividade física</b> <b>Escore</b> Mediana (IQR)	2,0 (0,84)	2,0 (1,0)	2,0 (2,0)	0,891 <sup>1</sup>	0,0725 <sup>2</sup>
<b>Exposição solar 10-16h</b> horas/semana Mediana (IQR)	7,0 (7,0)	6,0 (12,0)	5,0 (5,0)	0,187 <sup>1</sup>	0,1164 <sup>2</sup>
<b>Exposição solar outros horários</b> horas/semana Mediana (IQR)	2,0 (5,0)	4,0 (4,0)	4,0 (4,0)	0,731 <sup>1</sup>	0,0551 <sup>2</sup>
<b>Escore medida de proteção</b> Mediana (IQR)	2,25 (1,0)	2,0 (1,0)	2,5 (1,0)	0,361 <sup>1</sup>	0,3127 <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Teste Kruskal Wallis <sup>2</sup> ANOVA

IQR (Intervalo Interquartil) RDA (*Recommended Dietary Allowance*)

A tabela 3 mostra a comparação dos exames laboratoriais. Todos os participantes apresentaram valores normais de fósforo, magnésio, glicemia de jejum, AST e ALT e sem diferenças com significado estatístico entre os grupos. Mesmo sendo normais os valores séricos de cálcio para todos, houve diferença na análise entre os grupos. Após a comparação múltipla, a diferença ocorreu entre os grupos controle e DC em tratamento e controle e DC sem tratamento (Mann Whitney, com correção de Bonferroni). O valor foi maior no controle.

Em relação a 25-OH vitamina D, não observou-se nenhum valor inferior a 10ng/ml (deficiência) entre todos os participantes. Mas houve diferença com significado estatístico entre os grupos. O grupo DC sem tratamento obteve maior média em relação à vitamina D. Valores entre 10-30ng/ml (insuficiência) foram encontrados em 80,6%, 14,3% e 54,2% dos participantes dos grupos controle, DC sem tratamento e DC com tratamento, respectivamente. Na comparação múltipla

da variável, a diferença encontrada ocorreu entre os grupos controle e DC sem tratamento e DC sem tratamento e com tratamento (comparação múltipla LSD).

Tabela 3 – Resultados da comparação das variáveis laboratoriais

Variáveis	Controle n=31	DC sem tratamento n=7	DC em tratamento n=24	Valor-p	Poder
<b>Cálcio (mg/dl)</b> Mediana (IQR)	10,0 (0,0)	9,0 (1,0)	9,0 (1,0)	<b>0,002<sup>1</sup></b>	0,7704 <sup>2</sup>
<b>Fosfatase alcalina</b> (U/L) Média±DP	190,27±95,14	172,43±61,52	177,29±70,77	0,797 <sup>2</sup>	0,1193 <sup>2</sup>
<b>25-OH vitamina D</b> (ng/ml) Média±DP	24,87±4,68	36,57±7,81	27,67±7,89	<0,0001 <sup>2</sup>	0,9988 <sup>2</sup>
<b>PTH (pg/ml)</b> Mediana (IQR)	43,0 (18,0)	47,0 (31,0)	49,0 (21,0)	0,538 <sup>1</sup>	0,0939 <sup>2</sup>

1 Teste Kruskal Wallis; 2 ANOVA IQR (Intervalo Interquartil) DP (Desvio Padrão)

Não houve diferença estatística entre os grupos em relação ao PTH. Apenas uma paciente do grupo DC em tratamento apresentou elevação do mesmo. Ela também apresentou valor insuficiente de 25-OH vitamina D (13ng/ml).

Em relação aos parâmetros da osteossinografia (ADSoS e BTT – para ambos Z idade e altura), não foi observada diferença com significado estatístico entre os grupos. Apenas uma paciente do grupo DC sem tratamento apresentou alteração no exame (ADSoS Z idade -2,89 e Z altura -2, BTT Z idade -2,11).

A tabela 4 mostra a comparação entre as proteínas do metabolismo ósseo (OPG, OPN e FGF-23). Não houve diferença estatística entre os grupos.

Tabela 4 – Resultados da comparação das variáveis das proteínas do metabolismo ósseo

Variáveis	Controle n=31	DC sem tratamento n=7	DC em tratamento n=24	Valor -p	Poder
<b>OPG</b> Mediana (IQR)	860,18 (627,52)	886,84 (508,88)	1.108,48 (270,32)	0,184 <sup>1</sup>	0,5444 <sup>2</sup>
<b>OPN</b> Mediana (IQR)	5221,97 (3878,04)	3052,75 (3111,90)	4852,48 (1558,95)	0,364 <sup>1</sup>	0,2007 <sup>2</sup>
<b>FGF23</b> Mediana (IQR)	30,37 (26,46)	41,28 (88,99)	31,28 (11,65)	0,465 <sup>1</sup>	0,1066 <sup>2</sup>

1 Kruskal Wallis 2- ANOVA IQR (Intervalo Interquartil)

### 3.4 Discussão

A DC é uma doença sistêmica, imunomediada, desencadeada pelo glúten, em indivíduos geneticamente predispostos e que pode cursar, dentre outras manifestações, com alterações da densidade mineral óssea.<sup>3,16,17</sup> Vários fatores contribuem para a osteopatia metabólica da DC como: má absorção de cálcio e vitamina D, hiperparatireoidismo secundário, inflamação local e sistêmica.<sup>2,3</sup> Nos últimos quinze anos, a compreensão de mecanismos moleculares que regulam a formação e ativação dos osteoclastos, via RANK, RANKL/OPG tem sido enfatizada em estudo.<sup>3</sup>

O RANK é um receptor de superfície celular nos osteoclastos e seus precursores. Já o RANKL, seu ligante, é expresso e secretado pelos osteoblastos. A ligação dos dois resulta na diferenciação do osteoclasto e consequente reabsorção óssea. O processo é regulado pela produção do antagonista OPG, pelos osteoblastos, que bloqueia a ligação do RANK ao RANKL e inibe a reabsorção óssea.<sup>3,4,7,8</sup> Em pacientes com DC do gênero feminino, em dieta isenta de glúten, *Fiori et al* demonstraram um aumento de OPG e RANKL com uma relação OPG/RANKL inferior aos controles e com uma relação positiva com a densidade mineral óssea.<sup>5,7,10</sup> *Taranta et al* observaram relação RANKL/OPG aumentada quando compararam um grupo de adultos com DC, antes do início da dieta, com o grupo que estava em dieta por um tempo médio de 39,7 ( $\pm$  28,8) meses. Os participantes de ambos apresentavam baixa densidade óssea.<sup>26</sup>

No presente estudo, não houve diferença entre os grupos controle, DC em tratamento e DC sem tratamento nos valores de OPG. Não foi feita a avaliação do RANKL e, conseqüentemente, a relação entre ambos não pode ser analisada. Existem poucos estudos sobre os marcadores de reabsorção óssea na faixa etária pediátrica.<sup>27</sup> *Ambroszkiewicz et al* já demonstraram diminuição da OPG e aumento do RANKL em crianças com fibrose cística em relação aos controles. A relação OPG/RANKL também estava diminuída no grupo doente. Mas não foi feita avaliação da densidade óssea neste trabalho.<sup>27</sup> A osteopatia da DC, em crianças e adolescentes, tem fatores desencadeantes semelhantes aos dos adultos.<sup>3</sup> O fato da densidade mineral estar normal para a grande maioria dos pacientes com DC no presente trabalho pode explicar os achados. Além disso, o número limitado



de participantes no grupo DC sem tratamento pode ter comprometido a avaliação nesta categoria e a extrapolação dos resultados.

Outro fato que supostamente pode ter contribuído para a equivalência entre os grupos em relação aos marcadores de reabsorção óssea foram as semelhanças em relação à ingestão de cálcio, atividade física e exposição solar entre eles. A ingestão de cálcio foi abaixo da recomendação para idade em todos os grupos do estudo. Em pacientes com DC é esperada uma redução da ingestão devido à intolerância à lactose (secundária à lesão vilositária presente inicialmente na DC), baixo teor de cálcio presentes em alimentos naturalmente sem glúten e não fortificação da maioria destes alimentos.<sup>3</sup> Mas em crianças e adolescentes saudáveis a inadequada ingestão de cálcio também tem sido citada.<sup>28</sup> O mesmo ocorreu em relação à atividade física. Apesar da DC estar associada à baixa prática de atividade física pela fadiga e redução das relações sociais relacionados à própria doença, o sedentarismo também tem sido observado em crianças e adolescentes saudáveis.<sup>22,29</sup> Já a exposição solar foi adequada para todos os participantes com médias superiores aos 15-20 minutos diários recomendados.<sup>23,25</sup>

Autoanticorpos contra OPG também já foram citados na osteopatia da DC. Eles bloqueiam o efeito inibitório da OPG sobre o RANKL. Estes autoanticorpos foram detectados em um paciente do gênero masculino com DC e osteoporose grave e em outros três pacientes em um estudo de *Riches et al.*<sup>3,30</sup> Já *Larussa et al* não demonstraram evidências destes anticorpos em 30 pacientes com DC, em dieta, testados independentemente da densidade mineral óssea e histologia duodenal.<sup>31</sup> Ainda não existem estudos em pediatria. Portanto, apesar da participação dos autoanticorpos e da via RANK, RANKL/OPG na DC não estar totalmente elucidada, as evidências disponíveis mostram que existem mecanismos atuantes na fisiopatologia da osteopatia na DC.<sup>3</sup>

No presente estudo todos os pacientes obtiveram valores adequados de cálcio sérico. Mas na comparação entre os três grupos, o controle obteve maior mediana. A DC acarreta má absorção de cálcio e a instituição da dieta tende a resolver esse problema.<sup>2</sup> Já foi relatada leve hipocalcemia em crianças com DC com diagnóstico recente e um ano após dieta.<sup>32</sup> Mas equivalências entre os valores do cálcio entre pacientes, com e sem tratamento, também já foram citadas em trabalhos.<sup>33,34</sup>

Na comparação entre os grupos, foi observada diferença estatística na dosagem da 25-OH vitamina D. A diferença foi percebida na comparação entre os grupos controle e DC sem tratamento e DC sem tratamento e com tratamento. As maiores médias foram obtidas nos grupos DC sem tratamento, com tratamento e controle. Apesar de nenhum participante ter apresentado deficiência da vitamina, houve uma taxa elevada de insuficiência. Foram utilizados os valores de referência do Laboratório Central da UFMG que considera deficientes valores <10ng/ml, insuficiente entre 10-30 e suficiente >30. No entanto, estes valores também são motivo de discussão. Segundo o *Institute of Medicine* (IOM), um valor sérico de vitamina D de 20ng/mL supre as necessidades de 97,5% da população.<sup>20</sup> Já para a *Endocrine Society*, o ponto de corte para suficiência é de  $\geq 30$ ng/mL.<sup>35</sup>

A vitamina D relaciona-se a massa óssea, pois atua aumentando a absorção intestinal de cálcio.<sup>3,4</sup> Apesar de ser conhecido que apenas 5 a 10% da necessidade vitamínica ser adquirida pela alimentação com o restante sendo obtida através da exposição solar, a diminuição da sua ingestão contribui para o seu déficit.<sup>36</sup> Logo, a baixa ingestão de alimentos com cálcio pode estar associada ao baixo consumo de vitamina D entre os participantes e contribuir para a insuficiência observada no estudo, já que a exposição solar foi adequada para todos. A deficiência de vitamina D pode ocorrer em pacientes com DC devido à sua má absorção secundária a lesão intestinal e ingestão inadequada relacionada à restrição de leite.<sup>3</sup> A dieta isenta de glúten parece normalizar o metabolismo da vitamina. Apesar de não haver muitos estudos, alguns demonstram um aumento da vitamina D após o início da dieta em crianças ou mesmo uma tendência de diminuição da vitamina em pacientes não tratados.<sup>2,32</sup> Outros trabalhos não demonstraram diferenças entre DC sem e com dieta de exclusão do glúten, inclusive por não terem observado deficiência de vitamina D.<sup>37,38</sup> A faixa etária pediátrica é menos acometida em relação aos adultos. Isso ocorre porque as crianças são mais expostas ao sol, consomem mais leite e derivados, muitos destes fortificados e usam mais rotineiramente suplementação de vitamina D no primeiro ano de vida, adiando a deficiência. Além disso, a transgressão à dieta é mais comum nos adultos.<sup>39</sup> Apesar de ter sido observada maior média de vitamina D no grupo DC sem tratamento, o pequeno número da amostra deste grupo não permite a extrapolação dos resultados.

Os grupos do estudo não apresentaram diferenças em relação ao PTH. Apenas uma paciente com DC, em tratamento, apresentou aumento do PTH associada à insuficiência de vitamina D. A má absorção de cálcio associada aos valores diminuídos de vitamina D leva a um aumento do PTH, em resposta a hipocalcemia. O aumento do PTH estimula o aumento renal da enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase que converte a 25-OH vitamina D em 1,25 dihidroxivitamina D. Por sua vez, a vitamina D aumenta absorção intestinal de cálcio. A elevação do PTH leva a um aumento do *turnover* ósseo. Mas a reabsorção é mais rápida que a neoformação, resultando em perda óssea.<sup>36</sup> O hiperparatireoidismo relaciona-se à redução da massa mineral óssea em pacientes com DC até mesmo em dieta, mas isso não foi observado no presente estudo.<sup>2,3,36</sup>

A dieta isenta de glúten, adequada e prolongada, contribui para a recuperação da densidade óssea, especialmente se iniciada na infância e adolescência. Mas há dúvidas se o pico de massa óssea ideal é alcançado e sustentado como ocorre em pessoas saudáveis.<sup>4</sup> O presente estudo observou parâmetros adequados na osteossonografia para todos os pacientes com DC em tratamento e os resultados foram semelhantes aos do grupo controle. Apenas uma paciente com DC sem tratamento apresentou alteração no exame. Ela apresentava valores normal de PTH e insuficiente de vitamina D. No entanto, não houve diferença com significado estatístico entre os grupos. Novamente, o pequeno número de participantes no grupo DC, sem tratamento, pode ter comprometido a análise. A densidade óssea foi analisada por meio da osteossonografia, modalidade de avaliação já aprovada pela *United States Food and Drug Administration* e que possui boa correlação com a densitometria. Suas vantagens são: ser um equipamento portátil, não invasivo, de baixo custo, de rápida realização e livre de radiação - fator importante especialmente para crianças.<sup>34</sup>

Outros fatores ligados à formação óssea têm sido estudados, mas ainda não foram avaliados na DC. A OPN é uma glicoproteína expressa por várias células do organismo, mas que possui valores aumentados em tecidos mineralizados.<sup>11,12</sup> Faz parte da família das proteínas denominadas SIBLING (*Small Integrin-Binding N-Linked Glycoprotein*) que são secretadas na matriz extracelular durante a formação dos osteoides e, subsequente mineralização.<sup>11,13</sup>

A OPN foi inicialmente isolada da camada cortical do osso bovino e clonada pela primeira vez em 1986.<sup>40</sup> No osso ela é produzida pelos osteoblastos, osteoclastos e osteoides.<sup>13</sup> Sua função na mineralização óssea ainda não é bem definida. Ela parece ter relação com a modulação da formação da hidroxiapatita, prevenindo o crescimento dos cristais em áreas inapropriadas (como na linha de junção dos osteoides, tecidos moles e fluídos biológicos) e regulando seu crescimento em tamanho e forma.<sup>12,13,41</sup> Essa inibição da mineralização óssea excessiva também parece contar com a ação da 1,25 OH vitamina D que estimula a osteopontina e seu efeito inibitório.<sup>41,42</sup> A OPN também atua na diferenciação dos osteoclastos e osteoblastos na medula óssea. Age na promoção da adesão, diferenciação e função dessas células. Também parece regular ações do PTH, assim como é regulada por este, por meio do aumento da sua transcrição e expressão nos osteoblastos.<sup>40,41</sup>

Aumentos de OPN foram citados em algumas doenças como câncer, obesidade, doenças autoimune, cardiovasculares e ósseas. Em 2013, *Cho et al* demonstraram aumento da OPN em mulheres pós menopausa em relação às que estavam na pré menopausa. Também foi observada uma relação inversa com a densidade mineral óssea, implicando uma participação da OPN na perda óssea, na pós menopausa.<sup>43</sup> O presente estudo não demonstrou diferença nos valores da OPN nos grupos controle, DC sem e DC em tratamento. O fato dos participantes apresentarem densidade óssea normal pode explicar os achados. Logo, a participação da OPN na osteopatia da DC em crianças e adolescentes ainda não pode ser descartada na DC.

O mesmo ocorreu em relação ao FGF-23. Não foi observada diferença entre os grupos no presente estudo. O FGF-23 é um regulador do metabolismo do fósforo e da vitamina D.<sup>14,15</sup> Pertence à subfamília dos FGFs que age como hormônio por meio da sua capacidade de interagir com o receptor FGF na presença de proteínas da família Klotho (cofator do processo).<sup>15,44</sup> Ele é produzido no osso, especificamente nos osteócitos e osteoblastos.<sup>14,15</sup> Seu valor aumenta com a queda da função renal, o que parece relacioná-lo com o desarranjo do metabolismo mineral ósseo em pacientes com insuficiência renal crônica, inclusive já demonstrado em crianças.<sup>14</sup> O aumento do FGF-23 é acompanhado por diminuição da reabsorção tubular de fosfato, hipofosfatemia, diminuição da 1,25-dihidroxitamina D e, conseqüente, comprometimento da

mineralização óssea (raquitismo e osteomalácia).<sup>14,44</sup> Ele age como protetor da intoxicação por vitamina D.<sup>14,15</sup> Também parece atuar diretamente na inibição da maturação do osteoblasto e da mineralização da matriz, especialmente durante o desenvolvimento embrionário do esqueleto.<sup>14</sup> A deficiência de FGF-23 resulta em efeito oposto. Já o cofator Klotho, além das funções relacionadas ao FGF-23, age na regulação da absorção renal de cálcio.<sup>44</sup>

A expressão do FGF-23 é regulada pela vitamina D, fosfato e PTH. A administração de 1,25 dihidroxivitamina D aumenta o FGF-23, aparentemente por ação direta da vitamina D no promotor de FGF-23, que leva a subsequente diminuição da 1,25 dihidroxivitamina D.<sup>14,15,44</sup> Uma dieta rica em fósforo é associada a aumento da FGF-23 e diminuição da 1,25 dihidroxivitamina D. O efeito contrário é observado na restrição de fósforo. Já o PTH pode estimular a expressão da FGF-23, como ocorre no hiperparatireoidismo primário. Por sua vez, o FGF-23 também parece regular o metabolismo do PTH. Ele pode suprimir a secreção do PTH já demonstrado, *in vivo* ou *in vitro*.<sup>14,15</sup> Logo, o aumento do PTH aumenta o FGF-23 que leva à diminuição do PTH.<sup>15</sup>

Alterações do FGF-23 não foram observadas no presente estudo, mas sua participação na osteopatia da DC não pode ser descartada. A normalidade da densidade mineral óssea pode explicar os resultados. O pequeno número de participantes também limitou a extrapolação dos achados.

### **3.5 Conclusão**

Crianças e adolescentes com DC, em dieta de restrição de glúten há pelo menos um ano ou sem tratamento, não apresentam diferenças nos níveis plasmáticos dos marcadores de reabsorção óssea. O fato dos participantes terem apresentado densidade mineral óssea normal pode justificar os achados. Portanto, a participação destes marcadores na osteopatia da DC não pode ser descartada, sendo necessário novos estudos para melhor compreensão da fisiopatologia da perda mineral óssea na doença.

## Referências bibliográficas

1. Stazi AV, Trinti B. Risk of osteoporosis in endocrine disorders and celiac disease. *Ann Ist Super Sanita*. 2007; 43(4): 430-3.
2. Bianchi ML, Bardella MT. Bone and celiac disease. *Calcif Tissue Int*. 2002 Dec; 71(6): 465-71.
3. Larussa T, Suraci E, Nazionale I, Abenavoli L, Imeneo M, Lizza F. Bone mineralization in celiac disease. *Gastroenterol Res Pract*. 2012; 2012: 19802.
4. Krupa-Kozak U. Pathologic bone alterations in celiac disease: Etiology, epidemiology, and treatment. *Nutrition*. 2014 Jan; 30(1): 16-24.
5. Di Stefano M, Mengoli C, Bergonzi M, Corazza GR. Bone mass and mineral metabolism alterations in adult celiac disease: pathophysiology and clinical approach. *Nutrients*. 2013 Nov 22; 5(11): 4786-99.
6. Corazza GR, Di Stefano M, Mauriño E, Bai JC. Bones in coeliac disease: diagnosis and treatment. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2005 Jun; 19(3): 453-65.
7. McCormick RK. Osteoporosis: integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility. *Altern Med Rev*. 2007 Jun; 12(2): 113-45.
8. Katz S, Weinerman S. Osteoporosis and gastrointestinal disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2010 Aug; 6(8): 506-17.
9. Stazi AV, Trecca A, Trinti B. Osteoporosis in celiac disease and in endocrine and reproductive disorders. *World J Gastroenterol*. 2008 Jan 28; 14 (4): 498-505.
10. Fiore CE, Pennisi P, Ferro G, Ximenes B, Privitelli L, Mangiafico RA *et al*. Altered osteoprotegerin/RANKL ratio and low bone mineral density in celiac patients on long-term treatment with gluten-free diet. *Horm Metab Res*. 2006 Jun; 38(6): 417-22.
11. Pagel CN, Wasgewater Wijesinghe DK, Taghavi Esfandouni N, Mackie EJ. Osteopontin, inflammation and myogenesis: influencing regeneration, fibrosis and size of skeletal muscle. *J Cell Commun Signal*. 2014 Jun; 8(2): 95-103.
12. Hunter GK. Role of osteopontin in modulation of hydroxyapatite formation. *Calcif Tissue Int*. 2013 Oct; 93(4): 348-5.
13. Staines KA, MacRae VE, Farquharson C. The importance of the SIBLING family of proteins on skeletal mineralisation and bone remodelling. *J Endocrinol*. 2012 Sep; 214(3): 241-55.

14. Wesseling-Perry K. FGF-23 in bone biology. *Pediatr Nephrol*. 2010 Apr; 25(4): 603-8.
15. Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiol Rev*. 2012 Jan; 92(1): 131-55.
16. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, *et al*; North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005 Jan; 40(1): 1-19.
17. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R *et al*; ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis; ESPGHAN Gastroenterology Committee. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012 Jan; 54(1): 136-60.
18. World Health Organization [Internet]. Available from: <http://www.who.int/childgrowth/standards/en/>
19. ABEP, Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. Critério de classificação econômica Brasil, 2012 <http://www.abep.org>.
20. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, editors. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D* Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
21. 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 Oct; 29(10): 1344-9.
22. da Silva RC, Malina RM. Level of physical activity in adolescents from Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. *Cad Saude Publica*. 2000 Oct-Dec; 16(4): 1091-7. Portuguese.
23. 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 Feb; 144(2): 217-22.
24. Baroncelli GI. Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application. *Pediatr Res*. 2008 Mar; 63(3): 220-8.
25. 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 Dec; 4(6): 1392-1396.

26. Taranta A, Fortunati D, Longo M, Rucci N, Iacomino E, Aliberti F *et al.* Imbalance of osteoclastogenesis-regulating factors in patients with celiac disease. *J Bone Miner Res.* 2004 Jul;19(7): 1112-21.

27. 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; 58(2): 338-43.

28. Sdepanian VL, de Miranda Carvalho CN, de Moraes MB, Colugnati FA, Fagundes-Neto U. Bone mineral density of the lumbar spine in children and adolescents with celiac disease on a gluten-free diet in São Paulo, Brazil. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003 Nov; 37(5): 571-6.

29. Passananti V, Santonicola A, Bucci C, Andreozzi P, Ranaudo A, Di Giacomo DV *et al.* Bone mass in women with celiac disease: role of exercise and gluten-free diet. *Dig Liver Dis.* 2012 May; 44(5): 379-83.

30. Riches PL, McRorie E, Fraser WD, Determann C, van't Hof R, Ralston SH. Osteoporosis associated with neutralizing autoantibodies against osteoprotegerin. *N Engl J Med.* 2009 Oct 8; 361(15): 1459-65.

31. Larussa T, Suraci E, Nazionale I, Leone I, Montalcini T, Abenavoli L *et al.* No evidence of circulating autoantibodies against osteoprotegerin in patients with celiac disease. *World J Gastroenterol.* 2012 Apr 14; 18(14): 1622-7.

32. Kavak US1, Yüce A, Koçak N, Demir H, Saltik IN, Gürakan F, *et al.* Bone mineral density in children with untreated and treated celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003 Oct; 37(4): 434-6.

33. Kalayci AG, Kansu A, Girgin N, Kucuk O, Aras G. Bone mineral density and importance of a gluten-free diet in patients with celiac disease in childhood. *Pediatrics.* 2001 Nov; 108(5): E89.

34. Hartman C, Hino B, Lerner A, Eshach-Adiv O, Berkowitz D, Shaoul R, *et al.* Bone quantitative ultrasound and bone mineral density in children with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004 Nov; 39(5): 504-10.

35. 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. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2011; 96 (7): 1911-30.

36. Lucendo AJ, García-Manzanares A. Bone mineral density in adult coeliac disease: An updated review. *Rev Esp Enferm Dig.* 2013 May; 105(3): 154-162.



37. Blazina S, Bratanic N, Campa AS, Blagus R, Orel R. Bone mineral density and importance of strict gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease. *Bone*. 2010 Sep; 47(3): 598-603.
38. Tau C, Mautalen C, De Rosa S, Roca A, Valenzuela X. Bone mineral density in children with celiac disease. Effect of a Gluten-free diet. *Eur J Clin Nutr*. 2006 Mar; 60(3): 358-63.
39. Lerner A, Shapira Y, Agmon-Levin N, Pacht A, Ben-Ami Shor D, López HM *et al*. The clinical significance of 25OH-Vitamin D status in celiac disease. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2012 Jun; 42(3): 322-30.
40. Chatakun P1, Núñez-Toldrà R, Díaz López EJ, Gil-Recio C, Martínez-Sarrà E, Hernández-Alfaro F, *et al*. The effect of five proteins on stem cells used for osteoblast differentiation and proliferation: a current review of the literature. *Cell Mol Life Sci*. 2014 Jan; 71(1): 113-42.
41. Yuan Q, Jiang Y, Zhao X, Sato T, Densmore M, Schüler C, *et al*. Increased osteopontin contributes to inhibition of bone mineralization in FGF23-deficient mice. *J Bone Miner Res*. 2014 Mar; 29(3): 693-704.
42. van de Peppel J, van Leeuwen JP. Vitamin D and gene networks in human osteoblasts. *Front Physiol*. 2014 Apr 9; 5: 137.
43. 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 Oct; 28(10): 1496-9.
44. Quarles LD. Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. *J Clin Invest*. 2008 Dec; 118(12): 3820-8. Erratum in: *J Clin Invest*. 2009 Feb; 119(2): 421.

## Anexo 1

### VII. 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) .....
- Ficou em pé, parado ou andou .....
- Correu ou jogou um pouco .....
- Correu ou jogou um bocadinho .....
- Correu ou jogou intensamente a maior parte do tempo .....

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) .....
- Ficou em pé, parado ou andou .....
- Correu ou jogou um pouco .....
- Correu ou jogou um bocadinho .....
- Correu ou jogou intensamente a maior parte do tempo .....

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 .....
- 1 vez na semana passada .....
- 2 ou 3 vezes na semana passada .....
- 4 vezes na semana passada .....
- 5 vezes na semana passada .....

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 .....
- 1 vez na semana passada .....
- 2 – 3 vezes na semana passada .....
- 4 – 5 vezes na semana passada .....
- 6 – 7 vezes na semana passada .....

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

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

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 passada .....O

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
<b>SEGUNDA</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>TERÇA</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>QUARTA</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>QUINTA</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>SEXTA</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>SÁBADO</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<b>DOMINGO</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

**Anexo 2****VIII. Exposição à luz solar**

Você toma sol?

1. Sim 2. Não

Como? 1. Vestido 2. Traje de banho

**Questionário sobre hábitos de exposição ao sol:**

**1-10 anos: perguntar para a mãe e 11-17 anos perguntar diretamente para criança/adolescente**

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)

Em qual horário?

Conte-me como é um dia típico durante a semana:

**(10-16H)**

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

**OUTROS HORÁRIOS**

- zero
- 30 minutos ou menos
- 31 minutos a 1 hora
- 2 horas
- 3 horas
- 4 horas
- 5 horas
- 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).

Em qual horário?

Conte-me como é um dia típico durante o fim de semana:

**(10-16H)**

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

**OUTROS HORÁRIOS**

- zero
- 30 minutos ou menos
- 31 minutos a 1 hora
- 2 horas
- 3 horas
- 4 horas
- 5 horas
- 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 ensolarado:

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

Nunca  Raramente  Algumas vezes  Frequentemente  Sempre

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

Nunca  Raramente  Algumas vezes  Frequentemente  Sempre

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

Nunca  Raramente  Algumas vezes  Frequentemente  Sempre

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

Nunca  Raramente  Algumas vezes  Frequentemente  Sempre

7) Com que frequência você/seu filho usa **ÓCULOS ESCUROS?**\*\*

Nunca  Raramente  Algumas vezes  Frequentemente  Sempre

8) Com que frequência você/seu filho fica no sol para pegar um bronzado?

Nunca  Raramente  Algumas vezes  Frequentemente  Sempre

9) Qual é a cor da sua pele/da pele do seu filho quando não está bronzada?\*\*

Muito clara  Clara  Castanho ou morena clara  Castanho ou morena escura  Marrom escura  Muito escura

\*\* itens secundários

**CONCLUSÃO:**

**Tempo de exposição à luz solar:** \_\_\_\_\_h/sem

**Horário mais frequente de exposição à luz solar:** \_\_\_\_\_

**Adota medidas de proteção solar? 1. Sim 2. Não**



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  
PAULA VALLADARES GUERRA RESENDE**

Realizou-se, no dia 25 de novembro de 2014, às 14:00 horas, sala 6062, andar térreo da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese, intitulada "AVALIAÇÃO OSTEOSSONOGRÁFICA DA DENSIDADE MINERAL DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DOENÇA CELÍACA", apresentada por PAULA VALLADARES GUERRA RESENDE, número de registro 2011555743, graduada 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: Francisco José Penna - Orientador (UFMG); Marco Antônio Duarte (UFMG); Luciano Amédée Péret Filho (UFMG); Flávio Diniz Caparanga (FHEMIG); e Gisella Alves Pontes da Silva (UFPE).

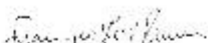
A Comissão considerou a tese:

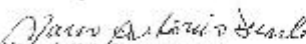
) Aprovada

) Reprovada

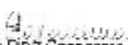
Finalizados os trabalhos, lavrou a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 25 de novembro de 2014.

  
Prof. Francisco José Penna (Doutor)

  
Prof. Marco Antônio Duarte (Doutor)

  
Prof. Luciano Amédée Péret Filho (Doutor)

  
Prof. Flávio Diniz Caparanga (Doutor)

  
Prof. Gisella Alves Pontes da Silva (Doutora)



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**AValiação Osteossomográfica da Densidade Mineral de Crianças e Adolescentes com Doença Celíaca**

**PAULA VALLADARES GUERRA RESENDE**

Tese submetida à Banca Examinadora em 25/11/2014, 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 25 de novembro de 2014, pela banca constituída pelos membros:

*Manoel de Fátima*  
 Prof. Manoel de Fátima - Orientador  
 UFMG

*Marcos Vinícius de Aguiar*  
 Prof. Marcos Vinícius de Aguiar  
 UFMG

*Luiz Carlos de Fátima*  
 Prof. Luiz Carlos de Fátima  
 UFMG

*Luiz Carlos de Fátima*  
 Prof. Luiz Carlos de Fátima  
 UFMG

*Luiz Carlos de Fátima*  
 Prof. Luiz Carlos de Fátima  
 UFMG

Dele Horizonte, 25 de novembro de 2014.