



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico
Instituto de Nutrição

Márcia Fernanda Sardinha de Araujo Rodrigues Taveira Streit

Retenção de cálcio ósseo em meninos com baixa ingestão dietética de cálcio

Rio de Janeiro

2012

Márcia Fernanda Sardinha de Araujo Rodrigues Taveira Streit

Retenção de cálcio ósseo em meninos com baixa ingestão dietética de cálcio

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Alimentação, Nutrição e Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dra. Flávia Fioruci Bezerra

Rio de Janeiro

2012

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CEH/A

S915 Streit, Márcia Fernanda Sardinha de Araujo Rodrigues Taveira.
Retenção de cálcio ósseo em meninos com baixa ingestão dietética
de cálcio / Márcia Fernanda Sardinha de Araujo Rodrigues Taveira Streit. – 2012.
45 f.

Orientadora: Flávia Fioruci Bezerra.
Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
Instituto de Nutrição.

1. Ossos – Aspectos nutricionais – Teses. 2. Cálcio na nutrição humana –
Teses. 3. Crianças – Nutrição – Teses. I. Bezerra, Flávia Fioruci. II.
Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Nutrição. IV. Título.

es

CDU 612.752-053.5

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta
dissertação.

Assinatura

Data

Márcia Fernanda Sardinha de Araujo Rodrigues Taveira Streit

Retenção de cálcio ósseo em meninos com baixa ingestão dietética de cálcio

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Alimentação, Nutrição e Saúde.

Aprovada em 21 de setembro de 2012.

Orientadora: Prof.^a Dra. Flávia Fioruci Bezerra
Instituto de Nutrição - UERJ

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Josely Correa Koury
Instituto de Nutrição - UERJ

Prof.^a Dra. Vilma Blondet de Azeredo
Instituto de Nutrição da UFF

Rio de Janeiro

2012

DEDICATÓRIA

Ao meu querido mestre Jesus, por fortalecer a minha fé e esperança na conclusão de mais uma etapa de minha vida.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora querida prof^a Dr^a Flávia Fioruci Bezerra, que aceitou a tafera de me orientar. Obrigada pela oportunidade de convivência, exigência, competência e pelos ensinamentos fornecidos. Muito obrigada!

A prof^a Dr^a Josely Correa Koury, pela contribuição no desenvolvimento do meu aprendizado, pela alegria e pela agradável convivência.

A prof^a Dr^a Fernanda Kamp por ter acreditado em meu potencial desde a graduação, pela confiança ao ter me encaminhado para o Instituto de Nutrição da UERJ, pelo carinho, apoio e incentivo.

A toda equipe do NENFE, pelos momentos de convívio em equipe, pelas sugestões de melhora do meu projeto e pelos momentos de imensa alegria.

A Amina Chain, que mesmo atarefada, participou da construção do artigo científico.

A Maria Eduarda Diogenes Melo, pela convivência tão agradável, pela contribuição no meu aprendizado, pela paciência e tolerância constantes.

A equipe do Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos da UFRJ, em especial ao prof^o Alexandre Torres, por ter me recebido com os braços abertos, pelas tardes de ensino e pela contribuição nas análises bioquímicas.

As minhas maiores conquistas do mestrado: Mariana Gonçalves, Elaine Pereira e Nívea Fonseca. Obrigada pelos conselhos, incentivo, paciência, e acima de tudo, pela amizade.

Aos meus sogros, que tanto apóiam e incentivam o meu seguimento na área acadêmica.

A minha cunhada por ter me aconselhado sobre a viabilidade de execução do meu trabalho e ter se disponibilizado a ajudar quando precisei.

A minha família, por contribuir no meu esforço diário em ser melhor moralmente e na determinação nas minhas escolhas.

As minhas queridas amigas e irmãs do coração Renata Gonçalves, Isabela Maurício, Carolina Arêas, Márcia Bretz, Vanessa Maghamez, Priscilla Alves, Nathalie Loreiro, Gabriela Neves, Maria Cristina Ferreira e Carolina Agante, por compreenderem os momentos de ausência, desabafos, alegria e por estarem sempre dispostas a me ajudar dentro do possível e impossível. Obrigada pelo amor e a amizade eterna!

E finalmente, ao meu marido Eduardo Streit, pessoa que mais apoiou as minhas escolhas e me deu forças para que o desânimo não chegasse e a coragem prevalecesse.

Obrigada pela compreensão, dedicação e cumplicidade diárias.

Muitos dos homens mais sábios do mundo sequer escreveram um livro.

Carlos A. Bacelli - Irmão José

RESUMO

TAVEIRA, Márcia Fernanda Sardinha de Araujo Rodrigues Taveira. *Retenção de cálcio ósseo em meninos com baixa ingestão dietética de cálcio*. 2012. 45 f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) - Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

A expansão da massa óssea e o acúmulo diário de cálcio ósseo variam conforme o estágio puberal, sendo maiores nos estágios puberais III e IV. Nesses períodos, a retenção diária de cálcio ósseo atinge seu máximo, correspondendo a 290 - 360mg/dia, em meninos com ingestão de cálcio superior a 1000mg/dia. Pouco se sabe sobre a retenção diária de cálcio ósseo em meninos com baixa ingestão de cálcio. O objetivo desse estudo foi avaliar a retenção diária de cálcio nos ossos em meninos pré-púberes e púberes fisicamente ativos com baixa ingestão de cálcio. Participaram do estudo 27 meninos nos estágios puberais I ($8,5 \pm 0,6$ anos, $n=9$), II ($10,8 \pm 0,7$ anos, $n=9$) e III ($13,0 \pm 1,0$ anos, $n=9$). Coletas de amostras de sangue, avaliações da massa óssea e da composição corporal utilizando o DXA foram realizadas no início do estudo e após 6 meses. Dados de ingestão alimentar foram obtidos através de 3 recordatórios de 24h. Análises de PTH-i, 25(OH)D e IGF-I no soro foram determinadas por imunoenensaio quimioluminescente. A retenção diária de cálcio ósseo foi estimada assumindo que o cálcio representa 32,2% do CMO do corpo inteiro e considerando diferença de conteúdo de cálcio ósseo das duas avaliações dividido pelo intervalo em dias entre as avaliações. Os valores de z-score da DMO do corpo inteiro e do fêmur proximal total foram adequados nas duas avaliações. A ingestão de cálcio foi semelhante entre os grupos (684 ± 265 mg/d, 618 ± 406 mg/d e 597 ± 332 mg/d nos estágios I, II e III, respectivamente) e representou 55% das atuais recomendações dietéticas de cálcio. A retenção diária de cálcio ósseo foi menor ($P < 0,05$) nos meninos em estágio I (110 ± 38 mg/dia) comparado àqueles no II (189 ± 64 mg/dia) e III (225 ± 102 mg/dia). 75% dos meninos apresentaram 25(OH)D inferior a 50nmol/L ($n=6$, $n=8$ e $n=7$ nos estágios I, II e III, respectivamente) na primeira avaliação. A 25(OH)D se correlacionou positivamente com a DMO e o CMO do corpo inteiro e do fêmur nas duas avaliações. O IGF-1 foi maior no estágio III comparado ao II (288 ± 135 vs. 193 ± 79 ng/mL, $P < 0,05$). No grupo todo, IGF-I se correlacionou positivamente com a área óssea do corpo inteiro e do fêmur ($r > 0,49$; $P < 0,05$) nas duas avaliações, e foi a única variável bioquímica a se associar positivamente com a retenção de cálcio diária ($r = 0,40$, $P = 0,04$). Apesar da baixa ingestão de cálcio e do estado insuficiente de vitamina D, os meninos apresentaram adequada massa óssea para a idade. A retenção diária de cálcio observada foi similar à de meninos habituados a elevada ingestão de cálcio, exceto para os meninos em estágio III. Somente nesses meninos, a ingestão de cálcio esteve associada à retenção de cálcio diária ($r = 0,80$, $P < 0,01$), sugerindo que no estágio III em que a demanda de cálcio para a mineralização óssea é elevada, a baixa ingestão de cálcio, aliada ao estado insuficiente de vitamina D parece ser ter sido capaz de limitar a aquisição óssea ou ao menos diminuir a velocidade de acúmulo da massa óssea.

Palavras-chave: Cálcio. Ingestão de cálcio. Retenção diária de cálcio ósseo. Saúde óssea. Meninos. Infância e adolescência

ABSTRACT

Bone mass expansion and daily calcium retention in bones vary by pubertal stage, being higher in pubertal stages III and IV. During this period, the daily calcium retention in bones can reach around 290 and 360mg/d in boys with calcium intake over 1000mg/d. Little is known about the daily calcium retention in boys with low calcium intake. The aim of the present study was to determine daily bone calcium retention over a period of six months in boys with low calcium intake. Twenty seven boys in pubertal stages I (8.5 ± 0.6 years, $n=9$), II (10.8 ± 0.7 years, $n=9$) and III (13.0 ± 1.0 years, $n=9$) participated in the study. Blood samples, bone measurements and body composition using dual energy X-ray absorptiometry (DXA) were performed at baseline and after 6 months. Food intake was estimated by three 24-h recalls throughout the study and analyzed by the software Nutrisurvey. Analysis of PTH-i, 25(OH)D and IGF-I in serum were assessed by chemiluminescent immunoassays. The daily calcium retention was calculated assuming that calcium represents 32.2% of the whole body BMC and considering the ratio between change in total body calcium content and days elapsed between measurements. Calcium intake was similar between groups (684 ± 265 mg/d, 618 ± 406 mg/d e 597 ± 332 mg/d in stages I, II e III, respectively) and corresponded to about 55% of the recommended intake. Z-scores for whole body and total proximal femur BMD were greater than -2.0 at the beginning of the study and after six months. The daily calcium retention in bones was lower ($P < 0.05$) in boys at pubertal stage I (110 ± 38 mg/day) compared to those at pubertal stages II (189 ± 64 mg/day) and III (225 ± 102 mg/day). Approximately 75% of the boys studied had serum 25(OH)D concentrations lower than 50nmol/L ($n=6$, $n=8$, $n=7$ in pubertal stages I, II and III, respectively) at the beginning of the study. Serum 25(OH)D was positively correlated with BMD and BMC of the whole body and femur at the beginning and end of the study. The IGF-I was higher in pubertal stage III compared to II (288 ± 135 vs. 193 ± 79 ng/mL, $P < 0.05$). In the whole group, IGF-I was positively correlated with whole body and femur bone area ($r > 0.49$; $P < 0.05$) at the beginning of the study and after six months. Serum IGF-I at the beginning of the study was the only biochemical index associated with daily calcium retention ($r = 0.40$, $P = 0.04$). Despite the low calcium intake and vitamin D insufficiency, the boys had adequate bone mass for age. Daily calcium retention rate was similar to the observed in boys with adequate calcium intake, except for boys at pubertal stage III. Only in these boys, calcium intake was positively associated with daily calcium retention ($r = 0.80$, $P < 0.01$). Therefore, only for those boys in pubertal stage III, recognized as a period of very high calcium demand for bone mineralization, calcium intake together with an insufficient vitamin D status appeared to limit bone acquisition or at least reduce the velocity of bone mass accumulation.

Keywords: Calcium. Calcium intake. Daily calcium retention in bones. Bone health. Boys. Childhood and Adolescence.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1,25(OH) ₂ D	1,25 dihidroxivitamina D
25(OH)D	25-hidroxivitamina D
Δ	Diferença entre os dados obtidos após 6 meses
CMO	Conteúdo Mineral Ósseo
DHT	5-dehidrotestosterona
DMO	Densidade Mineral Óssea
DXA	Absorciometria por dupla emissão de raio-X
GC	Gordura corporal
GH	Hormônio do crescimento
IGF-I	Fator de crescimento tipo I semelhante à insulina
IL-1	Interleucinas 1
IL-6	Interleucinas 6
IMC	Índice de Massa Corporal
LAN/INU/UERJ	Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional da UERJ
MLG	Massa livre de gordura
PTH-i	Paratormônio intacto
T1	Primeira avaliação
T2	Segunda avaliação
TGF- β	Fator de crescimento transformador-?

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	10
1	REVISÃO DA LITERATURA	11
1.1	Aspectos Gerais e Funções do Cálcio no Organismo	11
1.2	Controle Homeostático de Cálcio	11
1.3	Absorção e Excreção de Cálcio	12
1.4	Metabolismo de Cálcio e do Tecido Ósseo na Infância e Adolescência	13
1.5	Fatores que Interferem no Metabolismo de Cálcio e do Tecido Ósseo na Infância e Adolescência	15
1.6	Avaliação do Ganho de Massa Óssea durante a Infância e Adolescência	17
2	JUSTIFICATIVA	19
3	OBJETIVOS	20
3.1	Objetivo Geral	20
3.2	Objetivos Específicos	20
4	MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1	Sujeitos e Delineamento Experimental	21
4.2	Análises Laboratoriais	21
4.3	Ingestão Alimentar	23
4.4	Avaliação Antropométrica e da Maturação Sexual	23
4.5	Avaliação da Composição Corporal e da Massa Óssea	24
4.6	Análise estatística	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
6	CONCLUSÃO	37
	REFERÊNCIAS	38
	APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO SOBRE INFORMAÇÕES GERAIS	43
	APÊNDICE B - CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO COMO VOLUNTÁRIO	45

INTRODUÇÃO

Estima-se que cerca de 40% da massa óssea total de um indivíduo adulto seja adquirida em um intervalo de aproximadamente 5 anos, que ocorre em média entre os 11 e 15 anos de idade (Matkovic et al., 1994; Yilmaz *et al.*, 2005; IOM, 2011). Hábitos de vida inadequados tais como o sedentarismo e a baixa ingestão dietética de nutrientes, em especial o cálcio, podem afetar negativamente a aquisição óssea neste período e prejudicar o alcance de um pico ótimo de massa óssea no início da vida adulta (Campos *et al.*, 2003; Matkovic et al., 2002). Por outro lado, a otimização da aquisição óssea durante o crescimento na infância e na adolescência contribui para adequação do conteúdo mineral ósseo ao longo da vida e tem sido considerada uma estratégia eficiente na prevenção da osteoporose (Campos *et al.*, 2003).

Durante a rápida expansão da massa óssea na puberdade, especialmente entre os estágios puberais de Tanner III e IV, a taxa de acúmulo diário de cálcio nos ossos atinge seu máximo (entre 290 e 360mg Ca/dia) (Molgaard *et al.*, 1999; Bailey *et al.*, 2000; Van Coeverden *et al.*, 2002; Vatanparast *et al.*, 2010). As atuais recomendações de ingestão diária de cálcio para crianças (4 a 8 anos, 1000mg/d) e adolescentes (9 a 18 anos, 1300 mg/d) se baseiam nas necessidades de cálcio para a sua máxima retenção nos ossos, mas são provenientes de estudos realizados em crianças e adolescentes habituadas a uma elevada ingestão desse nutriente (IOM, 2011). Pouco se sabe sobre o acúmulo de cálcio ósseo em meninos com baixa ingestão de cálcio, tal como frequentemente observado em brasileiros (Albano *et al.*, 2001; IBGE, 2011).

O único estudo avaliando retenção de cálcio ósseo em adolescentes brasileiros observou uma taxa média de retenção diária de 332mg de Ca/dia (Diogenes et al, 2010), similar ao observado em outros estudos (Molgaard *et al.*, 1999; Bailey *et al.*, 2000; Vatanparast *et al.*, 2010). A prática regular de atividade física intensa pode ao menos em parte ter contribuído para a adequada retenção diária de cálcio observada. No entanto, Diogenes e colaboradores (2010) não avaliaram a ingestão dietética de cálcio e tampouco o estado nutricional de vitamina D.

No presente estudo a retenção de cálcio nos ossos em meninos pré-púberes e púberes fisicamente ativos durante um período de seis meses foi avaliada levando-se em consideração a ingestão de cálcio e o estado nutricional de vitamina D, ambos fatores envolvidos com a utilização de cálcio pelo organismo.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Aspectos Gerais e Funções do Cálcio no Organismo

O cálcio é um cátion divalente que pertence à família dos alcalino-terrosos, com número atômico 20 e massa atômica 40. É considerado o íon estável mais abundante do organismo humano representando 1,5 a 2% do peso corporal total. Desse total, 99% encontra-se disponível nos ossos e dentes, enquanto que 1% está distribuído no tecido intracelular e no plasma sanguíneo. Cerca de 40-45% do cálcio plasmático está ligado a proteínas plasmáticas, como a albumina e a globulina, 8 a 10% encontra-se complexado a compostos de baixo peso molecular, como os citratos e os fosfatos; e, 45-50% está dissociado sob a sua forma iônica livre (Ca^{+2}) (Weaver e Heaney, 2006).

O cálcio é essencial para o desempenho de funções vitais no organismo humano. Participa do sítio catalítico de diversas enzimas e atua na transdução de sinais nas células devido a sua capacidade de ligar-se reversivelmente a proteínas (Weaver, 2006; Khanal e Nemere, 2008). O cálcio não se restringe apenas a essas funções, como também é parte essencial do esqueleto. Nos ossos, é encontrado sob a forma de sais de fosfato, sendo os cristais de hidroxiapatita a forma predominante ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$). Dessa forma, o cálcio desempenha um papel fundamental na sustentação do esqueleto e na proteção dos órgãos internos (Campos *et al.*, 2003; Weaver e Heaney, 2006). As funções do cálcio no esqueleto e em todos os outros tecidos dependem de um suprimento contínuo de cálcio na corrente sanguínea. Logo, para assegurar que esses processos ocorram, o objetivo da homeostase sistêmica de cálcio é a manutenção das suas concentrações sanguíneas relativamente constantes.

1.2 Controle Homeostático de Cálcio

A concentração plasmática de cálcio ionizado é mantida numa faixa estreita de variação (2,25-2,5mmol/L). Tal fenômeno ocorre porque existem mecanismos de controle que asseguram a disponibilidade de cálcio através das trocas de fluxos desse mineral entre o

intestino, rins e os ossos pela influência do paratormônio (PTH), da calcitonina e do calcitriol [1,25 dihidroxivitamina D - 1,25(OH)₂D], também conhecidos como hormônios calciotrópicos (Mundy e Guise, 1999).

Esses hormônios respondem a pequenas mudanças na concentração de íons cálcio no plasma. Quando a concentração plasmática de cálcio tende a reduzir, há um estímulo de secreção do PTH e a síntese da forma ativa da vitamina D, o calcitriol (1,25(OH)₂D) (Khanal e Nemere, 2008). Dessa forma, o PTH juntamente com a 1,25(OH)₂D, promove o aumento da reabsorção tubular renal, da mobilização óssea e da absorção intestinal de cálcio (Mundy e Guise, 1999; DeLuca, 2004; Khanal e Nemere, 2008). Por outro lado, quando a concentração plasmática de cálcio tende a se elevar, o PTH e o 1,25(OH)₂D são inibidos, enquanto que a calcitonina é secretada, a fim de gerar respostas opostas a esses hormônios (Mundy e Guise, 1999; Weaver, 2006).

1.3 Absorção Intestinal e Excreção de Cálcio

Cerca de 25 a 30% do cálcio dietético é absorvido diariamente em adultos saudáveis (Weaver e Heaney, 2006; Hunt e Johnson, 2007; Khanal e Nemere, 2008). Em períodos de maior demanda de cálcio, tais como a infância e o início da adolescência, a absorção se eleva (Fomon e Nelson, 1993; Abrams *et al.*, 1997), enquanto que no final da adolescência, reduz a fim de alcançar taxas de absorção próximas às observadas em adultos (Abrams e Stuff, 1992).

A adaptação da eficiência de absorção de cálcio varie conforme a ingestão dietética habitual. Já foi observado uma eficiência de absorção de 38% em adolescentes com uma ingestão dietética de cálcio de 1330mg (Wastney *et al.*, 1996). Por outro lado, outros estudos verificaram uma eficiência de absorção em torno de 45 e 75% em crianças e adolescentes com baixa ingestão dietética de cálcio (O'Brien *et al.* 1996; Abrams, 2010).

O mecanismo responsável pela absorção de cálcio em situações de baixa ingestão é a via transcelular. Esta via de absorção de cálcio depende da 1,25(OH)₂D e ocorre mais especificamente, no duodeno e jejuno proximal (Khanal e Nemere, 2008). A 1,25(OH)₂D₃ interage com seu receptor nuclear específico (VDR) nos enterócitos e estimula a síntese de uma proteína transportadora de cálcio, a calbindina, que por transporte ativo, carrega o cálcio através do epitélio das células intestinais para a circulação sanguínea (Khanal e Nemere, 2008). A medida que a ingestão dietética aumenta, a via transcelular torna-se saturada

(Abrams, 2010) e desse modo, o cálcio passa a ser absorvido pela via paracelular, que se dá pela estreita junção delgada que une as células, mediado por um processo passivo e não saturável no jejuno e no íleo, e em menor grau, no duodeno (Weaver e Heaney, 2006; Khanal e Nemere, 2008).

A absorção intestinal de cálcio não depende somente da quantidade de cálcio ingerida, como também da qualidade da dieta. Dessa forma, a ingestão dietética de aminoácidos lisina e a arginina facilitam a absorção de cálcio, uma vez que levam a maior solubilidade desse mineral no trato gastrointestinal e reduzem a formação de sais fosfato (Turnberg e Riley, 1993). Por outro lado, a absorção intestinal de cálcio é reduzida quando alguns compostos ingeridos formam complexos insolúveis ao se ligarem ao cálcio promovendo a sua excreção pelas fezes, como é o caso do ácido oxálico e do ácido fítico. Outros fatores dietéticos como o sódio, a cafeína, o álcool e os aminoácidos sulfurados (cisteína e metionina) reduzem a absorção intestinal e estimulam a excreção urinária desse mineral (Weaver *et al.*, 1999; IOM, 2011).

Cerca de 98% do cálcio filtrado pelos rins é reabsorvido tanto pela via transcelular quanto pela paracelular, no entanto, a via paracelular representa 85% da reabsorção renal de cálcio ao longo do túbulo proximal e da alça ascendente de Henle (Khanal e Nemere, 2008). A excreção de cálcio se dá pela urina, fezes e em menor quantidade, pelo suor (Hunt e Johnson, 2007). O cálcio fecal inclui o cálcio que não é absorvido pela dieta e o cálcio endógeno que é excretado pela saliva, suco gástrico, suco pancreático e a bile. Essas perdas são inversamente proporcionais à eficiência de absorção (Weaver e Heaney, 2006).

Na infância e na adolescência, a excreção de cálcio pela urina, fezes e pelo suor reduzem a fim de contribuir com um balanço de cálcio positivo (Abrams *et al.*, 1992). Em geral, meninos apresentam uma excreção fecal, urinária e sudorípara de 108mg/d, 85mg/dia e 55mg/dia, respectivamente (Abrams *et al.*, 1992; Peacock, 1991; Palacios *et al.*, 2003; Braum *et al.*, 2006). No entanto, em situações de baixa ingestão de cálcio, as vias de excreção reduzem ainda mais a fim conservar o cálcio necessário para o ganho de massa óssea (O'Brien *et al.*, 1996). Essas adaptações juntamente com o elevado *turnover* ósseo garantem um adequado ganho de massa óssea na infância e na adolescência.

1.4 Metabolismo de Cálcio e do Tecido Ósseo na Infância e Adolescência

Sabe-se que o osso é um tecido em constante renovação tecidual através de um processo conhecido como *turnover* ósseo. Esse processo envolve a integração dos mecanismos de mobilização de um osso antigo e a formação de um osso novo, mediados pela

atividade dos osteoclastos e osteoblastos, respectivamente (Campos *et al.*, 2003; Rizzoli *et al.*, 2010). Dessa forma, esse processo de mobilização e formação óssea confere ao tecido ósseo uma característica dinâmica essencial na regulação da homeostase de cálcio (Campos *et al.*, 2003), assim como na manutenção da estrutura óssea e na modificação do formato e do tamanho dos ossos durante o crescimento (Weaver, 2006; Rizzoli *et al.*, 2010).

Na infância e na adolescência, o processo de formação óssea predomina sobre o de mobilização, o qual resulta no ganho de massa óssea (Campos *et al.*, 2003). No entanto, é durante a adolescência que o pico de velocidade de acúmulo de massa óssea é observado (Saggese *et al.*, 2002; Rizzoli *et al.*, 2010). Estima-se que cerca de 40% de massa óssea total de um indivíduo adulto seja alcançada durante o estirão de crescimento (Matkovic *et al.*, 1994; Yilmaz *et al.*, 2005; IOM, 2011) seja alcançada num intervalo de aproximadamente 5 anos, que geralmente ocorre entre 11 e 15 anos em meninos (Matkovic *et al.*, 1994; Molgaard *et al.*, 1999).

Essas adaptações fisiológicas características da infância e adolescência consistem em intensas alterações no perfil hormonal, fatores locais e a interação entre eles. Diversos hormônios, tais como os esteróides sexuais, o hormônio do crescimento e os hormônios calciotrópicos podem atuar sobre o tecido ósseo e, são em grande parte, mediados pelo estímulo à síntese de fatores locais. Dentre os fatores locais que estimulam a formação óssea destacam-se os fatores de crescimento tipo I semelhante à insulina (IGF-I) e o fator de crescimento transformador- β (TGF- β) enquanto as interleucinas 1 e 6 (IL1 e IL6) estimulam a degradação óssea (Veldhuis *et al.*, 2005).

Os efeitos da testosterona sobre o tecido ósseo estão associadas à maturação da placa de crescimento nas epífises dos ossos longos e ao estímulo da secreção do hormônio do crescimento (GH) pela hipófise anterior e da síntese do IGF-1 pelo tecido hepático e pelo tecido ósseo (Vanderschueren *et al.*, 2004). Tendo em vista que a testosterona pode ser convertida não somente em 5- α -dehidrotestosterona (DHT) pela enzima 5- α -redutase, como também em estradiol pela enzima aromatase, é possível que a secreção de GH e IGF-I seja estimulada em parte, pelo estradiol nas gônadas e em tecidos periféricos (Vanderschueren *et al.*, 2004).

O GH e o IGF-I são essenciais para o crescimento linear de crianças e adolescentes (Veldhuis *et al.*, 2005). O IGF-I é o único regulador da formação óssea que age de forma local e sistêmica. No tecido ósseo, estimula a proliferação e a diferenciação de condrócitos nas epífises, assim como a síntese da matriz óssea. Dessa forma, o IGF-I promove um efeito anabólico sobre os osteoblastos e estimula a expansão da área óssea (Wang *et al.* 2004). De

fato, tem sido demonstrado associações positivas entre o IGF-I e a área óssea de meninos e meninas entre 8 e 18 anos (Mora *et al.*, 1999).

Além disso, androgênios e estrogênios influenciam o metabolismo de fósforo e de cálcio no tecido ósseo, uma vez que regulam o fluxo e a deposição de cálcio e estimulam a formação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pelos rins. A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ contribui para o acúmulo de massa óssea, principalmente durante a puberdade (Saggese *et al.*, 2002). Assim como a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, o PTH inibe a expressão de osteoprotegerina, uma proteína anti-reabsortiva sintetizada pelos osteoblastos, e estimula indiretamente a diferenciação de osteoclastos através do estímulo da expressão de fatores de diferenciação de osteoclastos pelos osteoblastos (Yasuda *et al.*, 1999). Logo, a fase de mobilização óssea é ativada pra posterior formação óssea.

1.5 Fatores que Interferem no Metabolismo de Cálcio e do Tecido Ósseo na Infância e Adolescência

A massa óssea de um indivíduo é resultado de uma complexa interação entre fatores genéticos e ambientais. Acredita-se que a hereditariedade contribua com 80% do pico final de massa óssea (Matkovic *et al.*, 2002), porém, a escolha de hábitos de vida inadequados, tais como o sedentarismo e a baixa ingestão dietética de nutrientes podem prejudicar o alcance desse potencial genético (Heaney *et al.*, 2000). Dessa forma, esses fatores precisam ser considerados para garantir um ganho de massa óssea adequada.

A prática regular de exercício físico é um importante modulador da massa óssea, de forma que contribui tanto para a manutenção quanto para o incremento da massa óssea durante a infância e a adolescência. Acredita-se que a carga mecânica induzida pelo exercício gere respostas específicas ao tecido ósseo causando modificações na força e na massa óssea, conforme a frequência, duração e a intensidade do exercício (Vainionpää *et al.*, 2009). No entanto, a prática regular de exercício físico beneficia a saúde óssea com mais eficiência quando associada à ingestão dietética de cálcio adequada em meninos pré-púberes e púberes (Bass *et al.*, 2007).

A ingestão adequada de cálcio é crítica para o acúmulo ótimo do pico de massa óssea (Cashman, 2007), visto que estudos demonstram uma forte associação positiva entre a

ingestão dietética de cálcio e a massa óssea em crianças e adolescentes (Hoppe *et al.*, 2000; Vatanparast *et al.*, 2005). Embora o cálcio seja o mineral mais investigado por favorecer a adequada mineralização óssea, outros componentes dietéticos, tais como a proteína, magnésio, cobre, zinco, ferro e as vitaminas A, C, K e, especialmente a vitamina D, são de particular importância no desenvolvimento e na manutenção da massa óssea (Vatanparast *et al.*, 2005).

A vitamina D é uma vitamina lipossolúvel, que pode ser encontrada tanto na dieta sob as formas de vitamina D₂ (colecalfiferol, de origem animal) e D₃ (ergocalciferol, de origem vegetal), como também pode ser obtida fotoquimicamente na pele através da incidência de raios ultravioleta, sob a forma de vitamina D₃. Para que se torne ativa, são necessárias duas hidroxilações sequenciais. A primeira hidroxilação ocorre no fígado a fim de formar a 25(OH)D (calcidiol), enquanto que a segunda hidroxilação ocorre nos rins através da ação a enzima 1 α -hidroxilase renal, gerando então, a 1,25(OH)₂D (calcitriol), considerada forma ativa da vitamina D.

A 1,25(OH)₂D participa de funções essenciais no organismo humano, tais como a regulação da homeostase do cálcio e do metabolismo ósseo. Entretanto, a 25(OH)D é considerada o melhor indicador do estado nutricional de vitamina D, uma vez que suas concentrações refletem tanto a ingestão dietética quanto a síntese endógena desta vitamina e, os níveis de 1,25(OH)₂D podem não variar em situações de fornecimento inadequado de 25(OH)D, visto encontra-se em baixas concentrações na circulação sanguínea (50-125pmol/L) (DeLuca, 2004; Prentice *et al.*, 2008).

Assim como nos adultos, em crianças e adolescentes não se tem estabelecido ainda os pontos de corte ideais para análise de 25(OH)D. Atualmente tem sido sugerido concentrações superiores a 50nmol/L (20ng/mL) para classificação do estado nutricional adequado de vitamina D (Viljakainen *et al.*, 2006; Cashman *et al.*, 2008; Norman, 2008; IOM, 2011), uma vez que os benefícios de vitamina D são alcançados nessa concentrações (Viljakainen *et al.*, 2006; Cashman *et al.*, 2008; IOM, 2011). No entanto, os níveis sanguíneos de 25(OH)D dependem da quantidade de vitamina D que chega ao fígado via dieta ou via síntese cutânea, que por sua vez, sofre influência da pigmentação da pele, da idade e das condições de exposição ao sol, tais como latitude, altitude, época do ano, entre outros (Norman, 2008; Prentice *et al.*, 2008). Embora a avaliação da insuficiência de vitamina D seja bastante investigada em regiões com latitudes extremas, por conta da baixa exposição à radiação ultravioleta (Fares *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2007), estudos têm verificado a insuficiência desta vitamina em adolescentes residentes em lugares cuja exposição solar é intensa ao longo do

ano, como é o caso do Brasil (Bezerra *et al.*, 2008; Peters *et al.*, 2009). Além disso, tem sido demonstrado associações positivas entre a 25(OH)D e a densidade mineral óssea de crianças e adolescentes (Viljakainen *et al.*, 2006; Cashman *et al.*, 2008). Embora já tenha sido observada essa associação em nutrizes adolescentes brasileiras (Bezerra *et al.*, 2008), ainda não está bem esclarecida a relação do estado nutricional de vitamina D e a ingestão de cálcio sobre o acúmulo de massa óssea em meninos brasileiros.

1.6 Avaliação do Ganho de Massa Óssea durante a Infância e Adolescência

Sabe-se que durante a rápida expansão na massa óssea, a deposição de cálcio nos ossos se eleva e alcança uma retenção máxima durante a puberdade (Van Coeverden *et al.*, 2002). De fato, as recomendações de ingestão de cálcio diárias durante esse período se baseiam nas necessidades de cálcio para a sua máxima retenção nos ossos, uma vez que a ingestão de cálcio dietético é considerada o maior preditor de retenção de cálcio (Hill *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2010).

O conteúdo de cálcio do organismo pode ser estimado através de medidas diretas de massa óssea (Diogenes *et al.*, 2010; Vatanparast *et al.*, 2010), como também pode ser determinado por estudos de balanço metabólico (Braum *et al.*, 2006; Hill *et al.*, 2008) ou estudos de cinética pela utilização de isótopos-estáveis (Abrams *et al.*, 1997). O estudo de balanço metabólico analisa a relação entre a ingestão de cálcio e retenção de cálcio em um curto período de tempo. A absorção líquida de cálcio é obtida pela diferença entre a ingestão e o somatório da excreção urinária com a excreção fecal (Braum *et al.*, 2006; Hill *et al.*, 2008). No entanto, esse tipo de estudo possui limitações devido à dificuldade de avaliar o cálcio dietético excretado pelas fezes, requer a cooperação do participante por conta das estadias prolongadas em enfermarias metabólicas e é geralmente, de natureza transversal (Bailey *et al.*, 2000; IOM, 2011). Os métodos que utilizam isótopos estáveis de cálcio permitem o desenvolvimento de modelos cinéticos que permitem o entendimento da distribuição tecidual e do turnover de cálcio após sua absorção intestinal (Abrams *et al.*, 1997).

A retenção de cálcio no organismo, e mais precisamente nos ossos, também pode ser estimada com base em medidas do conteúdo mineral ósseo em um intervalo de tempo pré-determinado. A técnica mais comumente empregada para a avaliação do conteúdo mineral ósseo do corpo inteiro ou de regiões específicas é a absorciometria de dupla emissão de raio-

X (DXA). O DXA é considerado padrão-ouro para avaliação do conteúdo e densidade mineral óssea por fornecer resultados com alta precisão. Para a determinação do conteúdo de cálcio nos ossos considera-se que o cálcio representa 32,2% (Ellis *et al.*, 1996), 34% (Matkovic *et al.*, 1994) ou 38% (O'Brien *et al.*, 1996) do conteúdo mineral ósseo. Esses percentuais são derivados de estudos realizados a partir de diferentes metodologias para determinação do cálcio ósseo. O percentual de 32,2% relatado por Ellis e colaboradores (1996) foi obtido por comparação direta entre resultados fornecidos pelo DXA e a análise de ativação de nêutrons que tem sido muito utilizado nos estudos realizados em adolescentes (Molgaard *et al.*, 1999; Bailey *et al.*, 2000; Diogenes *et al.*, 2010; Vatanparast *et al.*, 2010). Dessa forma, a retenção diária de cálcio nos ossos (mg/dia) pode ser estimada num longo período de tempo a partir da diferença de conteúdo de cálcio entre as medições realizadas (Diogenes *et al.*, 2009; Vatanparast *et al.*, 2010).

Estudos têm relatado uma retenção de cálcio média de 110 a 320mg/dia em meninos entre 7 e 13 anos (Abrams *et al.*, 1997; Molgaard *et al.*, 1999; Vatanparast *et al.*, 2010), e de 210mg/dia em meninos entre 14 e 18 anos (Vatanparast *et al.*, 2010). Em geral, a taxa de retenção diária de cálcio nos ossos atinge seu máximo (290 - 360mg/dia) aos 13 e 14 anos em meninos (Bailey *et al.*, 2000; Vatanparast *et al.*, 2010), período correspondente ao estágio puberal de Tanner III e IV (Molgaard *et al.*, 1999; Van Coeverden *et al.*, 2002). Diferentemente desses estudos onde a ingestão de cálcio encontra-se próxima as recomendações diárias (Bailey *et al.*, 2000; Vatanparast *et al.*, 2010), pesquisas mostram que o Brasil possui elevada prevalência de inadequação de ingestão de cálcio por crianças e adolescentes do gênero masculino (Albano *et al.*, 2001; Peters *et al.*, 2009; IBGE, 2011). Ainda que os brasileiros apresentem com frequência baixa ingestão de cálcio, é possível que possuam mecanismos de adaptação eficientes para assegurar o adequado acúmulo de cálcio nos ossos, visto que já foi observado um acúmulo de cálcio ósseo médio de 332mg/dia em meninos adolescentes brasileiros fisicamente ativos por um período de seis meses (Diogenes *et al.*, 2010). No entanto, Diogenes e colaboradores (2010) não avaliaram a ingestão dietética de cálcio e tampouco o estado nutricional de vitamina D, ambos fatores envolvidos com a utilização de cálcio pelo organismo.

2 JUSTIFICATIVA

O acúmulo de massa óssea na infância e, principalmente, na adolescência determina a massa óssea durante a vida adulta, o que por sua vez é um preditor significativo do risco de fraturas na idade avançada (Campos *et al.*, 2003; Matkovic *et al.*, 2002). Durante esses períodos de desenvolvimento sabe-se que a absorção intestinal de cálcio é máxima e que a ingestão de cálcio parece ser responsável por cerca de 12 a 15% da variabilidade na retenção de cálcio em meninos e meninas (Jackman *et al.*, 1997; Hill *et al.*, 2008). Sendo assim, as atuais recomendações de ingestão de cálcio na infância (4 a 8 anos, 1000mg/d) e na adolescência (9 a 18 anos, 1300 mg/d) baseiam-se nas necessidades de cálcio para garantir a máxima retenção diária desse mineral nos ossos nesses períodos (IOM, 2011) As estimativas das necessidades diárias de cálcio são provenientes de estudos de balanço de cálcio e de acompanhamento do ganho de massa óssea de crianças e adolescentes que tem sido realizados em indivíduos habituados a elevada ingestão de cálcio, submetidos ou não a situações de redução da ingestão ou de suplementação com cálcio. Pouco se sabe sobre o acúmulo de cálcio ósseo em adolescentes com baixa ingestão de cálcio, como é o caso dos crianças e adolescentes brasileiros. Ainda que um aumento na eficiência de absorção intestinal possa se constituir um mecanismo de adaptação importante e capaz de responder à variações na ingestão dietética de cálcio, em teoria, a exposição crônica à baixa ingestão de cálcio poderia prejudicar ou ao menos retardar o processo de acúmulo de cálcio nos ossos durante a infância e adolescência. Portanto, é relevante para o conhecimento das reais necessidades de ingestão de cálcio em adolescentes brasileiros que se avalie a retenção diária de cálcio nos ossos e que se investigue os fatores a ela associados.

3 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a retenção de cálcio nos ossos em meninos pré-púberes e púberes fisicamente ativos com baixa ingestão de cálcio.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a adequação da massa óssea e hormônios osso-relacionados em meninos pré-púberes e púberes com baixa ingestão de cálcio;
- Avaliar as modificações da massa óssea e dos hormônios estudados após seis meses de estudo;
- Determinar a retenção diária de cálcio nos ossos em um período de seis meses;
- Investigar as associações entre a ingestão de cálcio, o perfil hormonal e a retenção diária de cálcio.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Sujeitos e Delineamento Experimental

Meninos pré-púberes e púberes pertencentes a uma escola de basquete do Rio de Janeiro foram convidados a participar do estudo. A escolha por praticantes de exercício físico ocorreu a fim de assegurar que a atividade física não seria um fator limitante para o acúmulo de massa óssea dos meninos estudados. Após uma entrevista com a finalidade de explicar a proposta do estudo, 27 meninos entre 8 e 14 anos concordaram em participar. Considerando que o estágio puberal interfere de forma importante no metabolismo ósseo, os meninos foram divididos em 3 grupos conforme o estágio puberal que se encontravam no início do estudo, a saber: estágio I (n=9), II (n=9) e III (n=9). No dia do recrutamento, foi aplicado um questionário para obtenção de informações gerais (**APÊNDICE A**). Todos os meninos eram saudáveis, praticavam basquete regularmente (três vezes por semana), não consumiam suplementos de vitaminas e minerais, não faziam uso de hormônios e não apresentavam doenças que pudessem afetar a massa óssea.

O protocolo experimental foi desenvolvido de acordo com a resolução nº 196/96 (CNS/MS, 1996) e aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Pedro Ernesto (1207CEP/HUPE) quanto aos aspectos éticos e de segurança relacionados à participação de humanos. A execução do projeto, incluindo a coleta de amostras, foi realizada após o consentimento expresso dos voluntários e de seus representantes legais, previamente esclarecidos da finalidade do estudo (**APÊNDICE B**).

As avaliações foram realizadas no Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional da UERJ (LAN/INU/UERJ). A primeira avaliação (T₁) ocorreu no período de maio a setembro de 2009 e a segunda avaliação (T₂), após seis meses, com o propósito de avaliar a retenção diária de cálcio nos ossos no período estudado. As duas avaliações consistiram em análises laboratoriais, antropométricas, composição corporal, massa óssea e da ingestão dietética de cálcio.

4.2 Análises Laboratoriais

Amostras de sangue (10 mL) foram coletadas em jejum por um profissional capacitado em seringa descartável e transferidas para um tubo sem anticoagulante. Amostras

de soro foram separadas por centrifugação, aliquotadas e armazenadas a -20°C até as análises. Todo o material utilizado para a coleta, processamento e armazenamento das amostras era descartável. A vitamina D, na forma de 25(OH)D, o paratormônio intacto (PTH-i) e o IGF-I foram analisados em soro por imunoensaio por quimioluminescência (Liaison, Diasorin) em equipamento automatizado no laboratório de análises clínicas do Posto de Assistência Médica Hélio Pellegrino.

Paratormônio intacto (PTH-i)

Os níveis de PTH-i no soro foram determinados por imunoensaio quimioluminescente do tipo sanduíche (CLIA) (Liaison®, DiaSorin, EUA). O anticorpo purificado com afinidade, pela região 39-84 do PTH é revestido na fase sólida. O segundo anticorpo purificado com afinidade pela região 1-34 é conjugado com um derivado de luminol. Durante a incubação o PTH liga-se na fase sólida e é subsequentemente ligado pelo conjugado anticorpo-luminol. O material não ligado é removido com um ciclo de lavagem depois da incubação. Os reagentes iniciadores são adicionados para iniciar uma reação de quimioluminescência. A luz é mensurada por um fotomultiplicador em unidades reativas de luz e é proporcional a concentração de PTH existente nos calibradores, controles ou amostras. As análises foram feitas em duplicata. A concentração de PTH nas amostras foi expressa em pg/mL.

Vitamina D [25(OH)D]

As concentrações séricas de vitamina D sob a forma 25(OH)D, foram determinadas através de imunoensaio competitivo por quimioluminescência (CLIA) (Liaison®, DiaSorin, EUA). Durante a primeira incubação, a 25(OH)D dissocia-se da sua proteína de ligação e liga-se ao anticorpo específico na fase sólida. Após 10 minutos é adicionado o marcador vitamina D ligado a um derivado de luminol. Após uma segunda incubação de 10 minutos, o material não ligado é removido com um ciclo de lavagem. Em seguida, os reagentes iniciadores são então adicionados para o início da reação de quimioluminescência. O sinal de luz é medido por um fotomultiplicador como unidades de luz relativas, sendo inversamente

proporcional à concentração de 25(OH)D presente nos calibradores, nos controles ou nas amostras. As análises foram feitas em duplicata. A concentração de 25(OH)D foi expressa em nmol/L ou ng/dL (fator de conversão de nmol/L para ng/dL - 2,496).

Fator de crescimento tipo I semelhante à insulina (IGF-I)

A análise sérica do fator de crescimento tipo I semelhante a insulina (IGF-I) foi realizada por imunoensaio quimioluminescente do tipo sanduíche (CLIA) (Liaison®, DiaSorin, EUA). Após separação do IGF-I de sua proteína de ligação, um anticorpo monoclonal é utilizado na fase sólida. Um segundo anticorpo é conjugado com um derivado do luminol. Durante a incubação, o IGF-I se liga à fase sólida e subsequentemente se liga ao anticorpo conjugado de luminol. Após a incubação, o material não ligado é removido por um ciclo de lavagem. Os reagentes iniciadores são acionados para iniciarem a reação de quimioluminescência. A luz é mensurada por um fotomultiplicador como unidades relativas de luz que são proporcionais a quantidade de IGF-I presente nos calibradores, controles e amostras. As análises foram feitas em duplicata e a concentração de IGF-1 nas amostras foi expressa em ng/dL.

4.3 Ingestão Alimentar

Os dados de ingestão alimentar foram obtidos através de três recordatórios de 24h, sendo um deles referente ao consumo alimentar no final de semana. Os recordatórios de 24h foram realizados durante o recrutamento, na primeira avaliação e na entrega dos resultados da primeira avaliação. A quantificação dos nutrientes ingeridos foram calculados utilizando o programa “Nutrisurvey” com a base de dados adaptada para alimentos brasileiros de acordo com tabelas de composição dos alimentos (IBGE, 1996; TACO, 2006).

4.4 Avaliação Antropométrica e da Maturação Sexual

A massa corporal total foi mensurada em balança eletrônica Filizola com a aproximação de 0,1 kg e a estatura foi obtida por estadiômetro com a aproximação de 0,5 cm

(SECA). O cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC) e a razão do IMC para a idade utilizado para fins de classificação dos indivíduos em eutrofia (entre os percentis 15 e 85; WHO, 2007). O estágio puberal dos meninos foi determinado através da auto-avaliação das características sexuais correspondentes ao desenvolvimento da genitália, de acordo com Tanner (1962), somente na primeira avaliação.

4.5 Avaliação da Composição Corporal e da Massa Óssea

O conteúdo mineral ósseo (CMO, expresso em g) e a densidade mineral óssea (DMO, expresso em g/cm² e z-score) do esqueleto total e do fêmur proximal total, o percentual de gordura corporal (GC, %) e a massa livre de gordura (MLG Kg) foram avaliados por absorciometria por dupla emissão de raio-X (DXA) utilizando o equipamento iDXA (GE, Health Care), operado por profissional capacitado, com auxílio do software *enCore 2008 versão 12.20*. O Z-score da densidade mineral óssea de esqueleto total e do fêmur proximal total avaliados foi obtido utilizando-se *software* próprio do equipamento, com base em populações de referência de mesma idade e sexo, e utilizado como parâmetro de adequação. Para realização deste exame foi recomendado ao indivíduo vestir roupas leves sem adereços metálicos como botões e zíper e permanecer imóvel durante todo escaneamento. O conteúdo total de cálcio nos ossos foi calculado como 32,2% do conteúdo mineral ósseo do esqueleto total, tal como sugerido por Ellis e colaboradores (1996). A estimativa da retenção diária de cálcio ósseo (mg Ca/dia) no período de seis meses de estudo foi calculada pela diferença de conteúdo de cálcio ósseo das duas avaliações ($\Delta = T_2 - T_1$) dividido pelo intervalo em dias entre as avaliações para cada menino ($\Delta /$ intervalo em dias).

4.6 Análise estatística

A análise estatística descritiva foi realizada para a caracterização dos grupos e os dados foram expressos em média \pm desvio padrão. Diferenças significativas entre os estágios puberais foram analisadas por ANOVA one-way. Modificações nos indicadores bioquímicos e na massa óssea após seis meses foram avaliadas através de teste *t* pareado. Associações entre as variáveis por estágio puberal foram avaliadas por análise de correlação de Pearson. Associações entre as

variáveis estudadas no grupo todo foram examinadas após ajustes por estágio puberal por análise de correlação parcial. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos. As análises estatísticas serão realizadas através do programa SPSS (versão 17.0, SPSS, Inc., IL, USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os meninos que participaram do estudo foram divididos em 3 grupos de acordo com o estágio puberal em que se encontravam no início do estudo (estágio I, n=9; estágio II, n=9; estágio III, n=9). As características gerais dos meninos nos estágios puberais I, II e III são apresentadas na **Tabela 1**. A idade média era de $8,5 \pm 0,6$, $10,8 \pm 0,7$ e $13,0 \pm 1,0$ anos nos estágios puberais I, II e III, respectivamente. A estatura era adequada para a idade e o índice de massa corporal total encontrava-se na faixa de eutrofia nos três grupos, sugerindo uma adequação no estado nutricional. Somente 2 meninos no estágio puberal III apresentaram IMC para idade entre os percentis 97 e 99, sendo portanto classificados como obesos (WHO, 2007). No primeiro momento, os meninos que se encontravam no estágio puberal III apresentaram maior idade, massa corporal total, massa livre de gordura e estatura comparado àqueles em estágio puberal I e II, tal como esperado devido aos diferentes estágios de maturação sexual. A média da ingestão dietética de cálcio foi semelhante entre os grupos e representou 53% das atuais recomendações dietéticas de cálcio (IOM, 2011). Somente 1 menino no estágio puberal II apresentou ingestão dietética elevada de cálcio (1431mg). Esses resultados são similares a estudos realizados em meninos brasileiros (500 - 800mg Ca/d) (Albano et al, 2001; Peters et al, 2009; POF, 2011), e em meninos chineses (460 - 695 mg Ca/d) (Foo, 2008; Wu *et al.*, 2010), cuja ingestão dietética habitual de cálcio era inferior às atuais recomendações de ingestão de cálcio durante a infância (4-8 anos, 1000mg Ca/dia) e adolescência (9-18 anos, 1300 mg Ca/dia) (IOM, 2011).

Tabela 1. Características gerais dos participantes no início do estudo

Características	Estágios Puberais			p
	I (n=9)	II (n=9)	III (n=9)	
Idade, anos	$8,5 \pm 0,6^a$	$10,8 \pm 0,7^b$	$13,0 \pm 1,0^c$	0,000
Massa corporal total, kg	$30,0 \pm 4,6^a$	$40,3 \pm 8,2^b$	$56,8 \pm 16,5^c$	0,000
Estatura, cm	$134,0 \pm 3,1^a$	$144,0 \pm 6,0^b$	$158,4 \pm 7,3^c$	0,000
IMC, percentil	53 ± 28	58 ± 29	71 ± 30	0,432
Massa livre de gordura, kg	$21,5 \pm 1,9^a$	$28,6 \pm 2,2^b$	$39,1 \pm 7,1^c$	0,000
Gordura total, %	$28,0 \pm 6,3$	$28,2 \pm 9,4$	$29,2 \pm 9,2$	0,925
Ingestão de cálcio, mg/d	684 ± 265	618 ± 406	597 ± 332	0,851

Valores apresentados como média \pm desvio-padrão

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os estágios puberais pelo teste one-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD.

Apesar da baixa ingestão de cálcio observada, no início do estudo todos os meninos apresentavam massa óssea adequada para a idade, de acordo com os valores de z-score da densidade mineral óssea de corpo inteiro (**Tabela 2**). Nenhum caso de baixa massa óssea para a idade, definida como z-score $<-2,0$ (Brandão *et al.*, 2009) foi observado. Os valores médios de z-score da densidade mineral óssea de corpo inteiro foram semelhantes entre os grupos sugerindo que os mecanismos de adaptação para otimizar o pouco cálcio ingerido são semelhantes entre os estágios puberais estudados, sem que o efeito prejudicial cumulativo aparente da baixa ingestão crônica de cálcio seja observado. Tal como esperado em função da maturação esquelética ao longo dos anos, o conteúdo mineral ósseo (CMO, g), a área óssea (cm^2) e a densidade mineral óssea (DMO, g/cm^2) do corpo inteiro foram significativamente diferentes ($P<0,05$) entre os três estágios puberais no início do estudo, sendo superior no estágio puberal III (Tabela 2). No sexto mês do estudo, as diferenças significativas ($P<0,05$) observadas entre os grupos para CMO, área óssea e DMO foram mantidas. Da mesma forma, o padrão de semelhança do z-score da densidade mineral óssea entre os estágios puberais foi mantido no sexto mês de estudo (Tabela 2).

O CMO total foi significativamente maior ($P<0,05$) após seis meses em comparação ao início do estudo nos três estágios puberais estudados, porém o incremento ao longo dos seis meses foi menos pronunciado ($P <0,01$) nos meninos que se encontravam no estágio puberal I. A área óssea também foi significativamente maior ($P<0,05$) no sexto mês em comparação ao início do estudo nos três grupos, sendo o estágio puberal II o que apresentou maior ($P<0,05$) expansão da área óssea total no período estudado. Essa dissociação entre a expansão da área óssea e o incremento de conteúdo mineral ósseo já foi descrita em outros estudos, tal como Molgaard e colaboradores (1999) que observaram o incremento na área óssea maior nos meninos em estágios puberais II e III, enquanto que o incremento máximo do CMO foi observado apenas nos meninos em estágio puberal III. No presente estudo, as observações referentes à expansão na área óssea e ao incremento do CMO total podem ter contribuído com a maior DMO total nos meninos em estágio puberal III.

Resultados similares foram observados no fêmur proximal total (**Tabela 3**). O CMO, a área óssea e a DMO foram significativamente diferentes ($P<0,05$) entre os três estágios puberais tanto no início quanto no final do estudo, sendo superior no estágio puberal III, tal como esperado. Após seis meses, o CMO e a área óssea do fêmur aumentaram significativamente ($P <0,05$) em todos os grupos. O aumento observado nessas variáveis ao longo dos seis meses de estudo foi semelhante entre os estágios puberais. No entanto, a DMO do fêmur aumentou significativamente ($P <0,05$) apenas nos meninos do estágio puberal I.

Tabela 2. Variáveis ósseas do corpo inteiro no início e no final do estudo

	Estágios Puberais			<i>P</i>
	I (n=9)	II (n=9)	III (n=9)	
CMO, g				
T1	1107 ± 104 ^a	1444 ± 110 ^b	1987 ± 332 ^c	0,000
T2	1183 ± 108 ^{*a}	1577 ± 112 ^{*b}	2134 ± 358 ^{*c}	0,000
Δ	75 ± 31 ^a	133 ± 46 ^b	146 ± 59 ^b	0,009
Área óssea, cm²				
T1	1418 ± 82 ^a	1622 ± 112 ^b	1992 ± 122 ^c	0,000
T2	1481 ± 77 ^{*a}	1738 ± 99 ^{*b}	2063 ± 126 ^{*c}	0,000
Δ	62 ± 27 ^a	116 ± 49 ^b	71 ± 40 ^a	0,019
DMO, g/cm²				
T1	0.779 ± 0.040 ^a	0.890 ± 0.043 ^b	0.993 ± 0.116 ^c	0,000
T2	0.798 ± 0.045 ^{*a}	0.906 ± 0.028 ^b	1.030 ± 0.125 ^{*c}	0,000
Δ	0.018 ± 0.015	0.016 ± 0.027	0.037 ± 0.025	0,884
Z- score				
T1	0.5 ± 0.6	0.8 ± 0.7	1.0 ± 1.4	0,530
T2	0.5 ± 0.6	0.7 ± 0.6	0.9 ± 1.3	0,654
Δ	0.1 ± 0.2	-0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.3	0,389
Conteúdo de cálcio ósseo, g				
T1	356 ± 33 ^a	465 ± 35 ^b	639 ± 107 ^c	0,000
T2	380 ± 35 ^{*a}	507 ± 36 ^{*b}	687 ± 115 ^{*c}	0,000
Δ	24 ± 10 ^a	43 ± 15 ^b	47 ± 19 ^b	0,009

Valores são apresentados em média ± desvio-padrão

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre os estágios puberais por ANOVA one-way seguido pelo pós-teste LSD.

* Indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre T1 e T2

DMO = densidade mineral óssea; CMO = conteúdo mineral ósseo; Δ = diferença entre os dados obtidos após 6 meses

Table 3. Variáveis ósseas do fêmur proximal total no início e no final do estudo

	Estágios Puberais			P
	I (n=9)	II (n=9)	III (n=9)	
CMO, g				
T1	13.8 ± 1.8 ^a	20.8 ± 2.0 ^b	29.8 ± 5.5 ^c	0,000
T2	14.9 ± 1.8 ^{*a}	22.5 ± 2.8 ^{*b}	31.4 ± 5.9 ^{*c}	0,000
Δ	1.1 ± 0.7	1.7 ± 1.7	1.5 ± 2.1	0,713
Área óssea, cm²				
T1	17.4 ± 1.3 ^a	22.1 ± 2.7 ^b	28.4 ± 2.7 ^c	0,000
T2	18.5 ± 1.4 ^{*a}	23.5 ± 3.1 ^{*b}	29.3 ± 2.6 ^{*c}	0,000
Δ	1.1 ± 0.6	1.4 ± 0.7	0.9 ± 0.9	0,404
DMO, g/cm²				
T1	0.797 ± 0.087 ^a	0.942 ± 0.062 ^b	1.049 ± 0.154 ^b	0,734
T2	0.809 ± 0.090 ^{*a}	0.958 ± 0.066 ^b	1.071 ± 0.163 ^c	0,690
Δ	0.012 ± 0.019	0.016 ± 0.055	0.022 ± 0.048	0,953
Z- score				
T1	0.8 ± 1.0	1.0 ± 0.5	1.2 ± 1.4	0,781
T2	0.7 ± 1.0	0.9 ± 0.6	1.1 ± 1.5	0,663
Δ	-0.1 ± 0.3	-0.1 ± 0.4	-0.1 ± 0.4	0,884

Valores são apresentados em média ± desvio-padrão

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (P<0,05) entre os estágios puberais por ANOVA one-way seguido pelo pós-teste LSD.

* Indicam diferença significativa (P <0.05) entre T1 e T2 pelo teste t pareado

DMO = densidade mineral óssea; CMO = conteúdo mineral ósseo; Δ= diferença entre os dados obtidos após 6 meses

Baseando-se no pressuposto de que o conteúdo mineral ósseo total é constituído de 32.2% de cálcio (Ellis et al, 1996), no início do estudo o conteúdo total de cálcio nos ossos foi em média de 482 ± 137 g no grupo todo (n=27). Os dados de cálcio ósseo total no início e ao final do estudo foram utilizados para estimar a retenção de cálcio ósseo durante o intervalo médio de 6 meses. Neste período, o acúmulo de cálcio observado nos meninos no estágio puberal I ($24,3 \pm 10,1$ g Ca) foi significativamente menor ($P < 0,01$) do que o observado nos estágios II ($42,8 \pm 14,8$ g Ca) e III ($47,1 \pm 19,0$ g Ca) (Tabela 2). Para a estimativa da retenção diária de cálcio o acúmulo total no período médio de 6 meses foi dividido pelo número de dias decorridos entre as avaliações de massa óssea de cada indivíduo.

A retenção diária de cálcio observada nos meninos estudados (em média 175 mg Ca/d, n=27) esteve dentro da faixa de variação de retenção de cálcio (110 a 320mg Ca/dia) descrita na literatura para meninos entre 9 e 13 anos (estágios puberais I, II e III) habituados a uma ingestão de cálcio superior a 1000 mg/dia (Molgaard *et al.*, 1999; Vatanparast *et al.*, 2010). Após a divisão em grupos de acordo com o estágio puberal a retenção diária de cálcio foi em média 110 ± 38 mg Ca/dia no estágio I, 189 ± 64 mg Ca/dia no estágio II e 225 ± 102 mg Ca/dia no estágio III, sendo significativamente menor ($P < 0,05$) nos meninos em estágio puberal I comparado àqueles em estágios puberais II e III (**Figura 1**). Em geral, os meninos do presente estudo que se encontravam nos estágios puberais I e II apresentaram retenção diária de cálcio similar a meninos dinamarqueses nos estágios puberais I (107mg Ca/dia) e II (189mg Ca/dia) (Molgaard *et al.*, 1999). No entanto, a média da retenção diária de cálcio dos meninos no estágio puberal III no presente estudo foi aproximadamente 30% inferior à mediana observada por Molgaard e colaboradores (1999) em meninos dinamarqueses no mesmo estágio puberal (316 mg/dia). Portanto, a baixa ingestão de cálcio observada no presente estudo não parece ter prejudicado a retenção de cálcio nos estágios puberais I e II, mas pode se constituir um fator limitante para o acúmulo de massa óssea no estágio III.

Pouco se sabe sobre a retenção diária de cálcio nos ossos em meninos com baixa ingestão de cálcio, tal como frequentemente observado em brasileiros (Albano *et al.*, 2001; IBGE, 2011). Até o momento, foi encontrado apenas um estudo avaliando a retenção diária de cálcio em adolescentes brasileiros (Diogenes *et al.*, 2010). Nesse estudo que avaliou meninos entre os estágios puberais III e IV (entre 12 e 14 anos) praticantes de atividade física intensa, a ingestão habitual de cálcio não foi avaliada, embora os autores tenham sugerido uma ingestão baixa tendo em vista evidências de estudos anteriores na mesma população. A retenção diária de cálcio nos ossos reportada por Diogenes e colaboradores (2010) foi estimada em 332mg Ca/dia, semelhante aos valores reportados para meninos canadenses (359 mgCa /dia) na

mesma faixa etária (Bailey et al., 2000) porém habituados a uma elevada ingestão de cálcio. Esses autores sugerem que a adequada retenção de cálcio diária observada pode ser atribuída ao exercício físico intenso praticado pelos meninos estudados (Diogenes *et al.*, 2010).

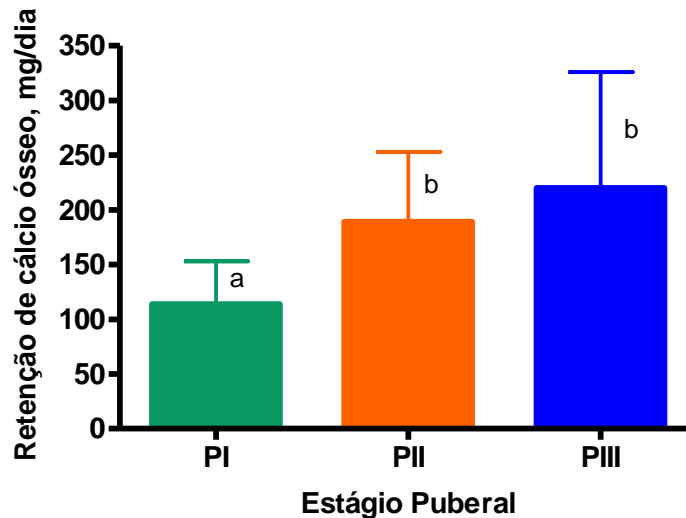


Figura 1. Retenção diária de cálcio por estágio puberal.

Letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre os estágios puberais por ANOVA one-way seguido pelo pós-teste LSD.

No presente estudo, quando os três estágios puberais foram avaliados em conjunto, não foi observada associação entre a ingestão de cálcio e a retenção diária de cálcio nos ossos ($r=0,12$ $P=0,55$). No entanto, quando os grupos foram avaliados separadamente uma forte associação positiva entre a ingestão de cálcio e a retenção diária de cálcio nos ossos foi observada apenas nos meninos em estágio puberal III ($r=0,80$, $P=0,01$) (**Figura 2**). Esses resultados são consistentes com a hipótese de que a mineralização óssea pode ser prejudicada pela baixa oferta de cálcio via dieta em um período de elevada demanda de cálcio em função das mais altas taxas de acúmulo de cálcio nos ossos. É possível portanto que os mecanismos de adaptação a uma situação de baixa ingestão crônica de cálcio, tal como a elevada eficiência de absorção intestinal, podem não ser suficientes para suprir completamente a elevada demanda para aquisição óssea no período de estirão de crescimento.

Os resultados obtidos também permitiram estimar a eficiência de absorção de cálcio (retenção de cálcio diária x 100/ingestão de cálcio de cada participante), conforme sugerido por Bailey e colaboradores (2000). Em média, a eficiência de absorção de cálcio foi $18 \pm 9\%$ no estágio puberal I, $34 \pm 20\%$ no estágio puberal II e $39 \pm 13\%$ no estágio puberal III. A

eficiência de absorção foi significativamente maior ($P<0.05$) nos meninos em estágio puberal II e III comparado ao estágio puberal I. Ainda assim, os resultados descritos nos estágios II e III foram semelhantes (e não superiores, como seria de se esperar) ao observado em meninos entre 8 e 14 anos com uma ingestão dietética média de 1140mg Ca/dia - eficiência média 36,5% (Bailey *et al.*, 2000).

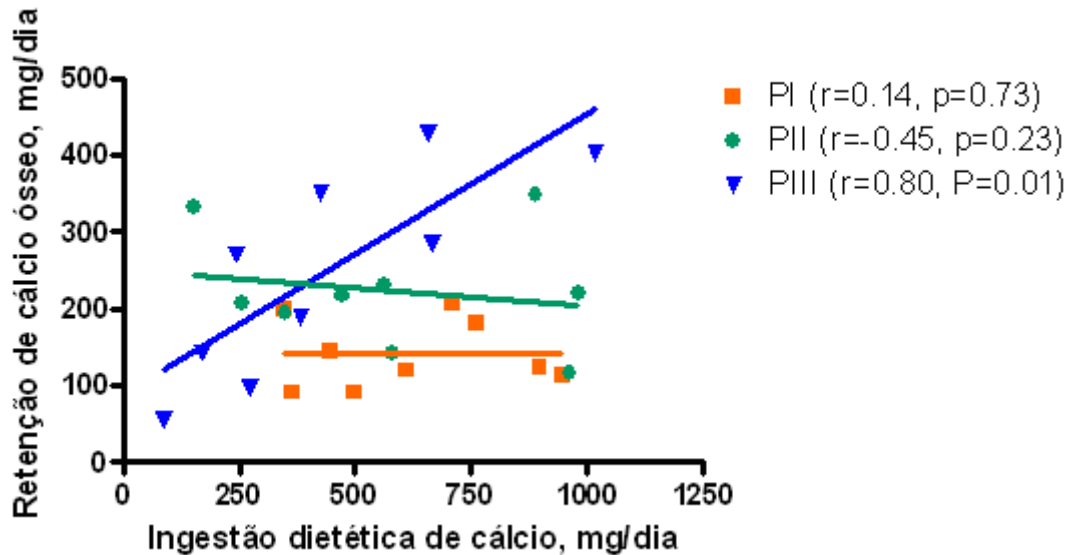


Figura 2. Correlação entre a retenção diária de cálcio ósseo e a ingestão ditética de cálcio por estágio puberal

As modificações na massa óssea características da infância e da adolescência são mediadas principalmente pelo PTH, 1,25(OH)₂D e o IGF-1 (Compston, 2001). As diferenças no perfil hormonal entre os diferentes estágios puberais são apresentadas na **Tabela 4**. No início do estudo, os meninos do estágio puberal III apresentavam elevadas concentrações de IGF-1 sérico quando comparado àqueles do estágio puberal II ($P=0,045$), enquanto que após 6 meses, suas concentrações foram superiores somente em relação aos meninos do estágio puberal I ($P=0,037$).

Nesse estudo não foram avaliadas as concentrações da forma ativa da vitamina D [1,25(OH)₂D], mas sim o pré-hormônio 25(OH)D por ser considerado o melhor biomarcador do estado nutricional de vitamina D. No início do estudo, não foram observadas diferenças significativas nas concentrações séricas de 25(OH)D entre os 3 grupos. Dos 27 meninos que participaram do estudo, 21 (~75%) apresentaram concentrações séricas de 25(OH)D inferiores a 50 nmol/L (20ng/mL) (n=6, n=8 e n=7 nos estágios puberais I, II e III, respectivamente),

considerada por muitos autores como insuficiência de vitamina D (Fuleihan *et al.*, 2001; Cashman *et al.*, 2008). De fato, a elevada prevalência de inadequação do estado nutricional de vitamina D tem sido observada em crianças e adolescentes de regiões com diferentes níveis de exposição à radiação UVB (Abrams *et al.*, 2005; Cashman *et al.*, 2008; Bezerra *et al.*, 2008; Peters *et al.*, 2009). Após 6 meses, também não foram observadas diferenças significativas nas concentrações séricas de 25(OH)D entre os grupos. No entanto, as concentrações aumentaram significativamente ($P<0,05$) nos 3 grupos de forma que as concentrações após 6 meses foram inferiores a 50nmol/L em apenas 33% dos meninos estudados ($n= 2$, $n=3$ e $n=4$, nos estágios puberais I, II e III, respectivamente). Esses resultados sugerem que, no Brasil, apesar da intensa exposição solar ao longo do ano, as concentrações de 25(OH)D também sofrem variação sazonal, tal como observado em outros países (Fuleihan *et al.*, 2001; Foo *et al.*, 2009) sendo mais elevadas nos meses de primavera/verão em comparação aos meses de outono/inverno.

Tabela 4. Concentrações de IGF-I, 25(OH)D, PTH-i no início (T1) e após 6 meses (T2) do estudo

Características	Estágios Puberais			P
	I (n=9)	II (n=9)	III (n=9)	
IGF-I (ng/mL)				
T1	205 ± 55 ^{a,b}	193 ± 79 ^b	288 ± 135 ^a	0,091
T2	172 ± 54 ^{a*}	185 ± 95 ^{a,b}	257 ± 91 ^b	0,078
Δ	-33 ± 30	-8 ± 18	-30 ± 41	0,504
25(OH)D (nmol/mL)				
T1	47,0 ± 15,0	35,4 ± 11,1	37,0 ± 18,0	0,238
T2	69,4 ± 29,0*	55,0 ± 14,0*	65,0 ± 25,0*	0,408
Δ	22,6 ± 24,6	19,3 ± 13,4	27,9 ± 12,3	0,591
PTH-i (pg/mL)				
T1	40,1 ± 14,0	45,0 ± 13,3	43,0 ± 41,0	0,922
T2	22,0 ± 13,0*	23,2 ± 14,5*	35,0 ± 15,6	0,127
Δ	-18,4 ± 14,0	-21,7 ± 17,6	-8,1 ± 41,0	0,543

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os estágios puberais pelo teste one-way ANOVA

* indica diferença significativa ($p<0,05$) entre T1 e T2 pelo teste T pareado

Δ - diferença entre os dados obtidos após 6 meses

Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações séricas de PTH entre os grupos no início do estudo. Reduções significativas nas suas concentrações foram observadas apenas nos estágios puberais I ($P<0,01$) e II ($P<0,01$) ao longo desses 6 meses de

estudo (Tabela 4). É importante ressaltar que apesar da redução observada, em todos os grupos as concentrações séricas de PTH estiveram dentro da faixa de normalidade ao longo do estudo (Wastney *et al.*, 2006; Cashman *et al.*, 2008). A redução das concentrações séricas de PTH nos estágios puberais I e II acompanhou o aumento dos níveis séricos de 25(OH)D sugerindo uma sincronia entre esses metabólitos. Está bem estabelecido na literatura que a baixa ingestão de cálcio e baixas concentrações de 25(OH)D contribuem para o aumento das concentrações de PTH no soro em crianças e adolescentes (Bonofiglio *et al.*, 2000; Fuleihan *et al.*, 2001; Bezerra *et al.*, 2002; Abrams *et al.*, 2005; Cashman *et al.*, 2008; Foo *et al.*, 2009) visando a adaptação às elevadas taxas de formação óssea associada ao crescimento e com isso, a contribuição para o aumento da absorção de cálcio (Abrams *et al.*, 2005). Adicionalmente, no início do estudo, foi observada uma tendência a associação inversa entre 25(OH)D e o PTH séricos ($r = -0.35$, $P = 0,078$) no grupo todo. No entanto, após 6 meses, não houve redução significativa das concentrações de PTH nos meninos em estágio puberal III ainda que tenha sido observado aumento de 75% nas concentrações de vitamina D nesse grupo, sugerindo que nesses meninos, a baixa ingestão de cálcio combinada à elevada demanda de cálcio pode exigir do organismo a manutenção de níveis mais elevados de PTH, na tentativa de aumentar a absorção intestinal de cálcio via estímulo para ativação da vitamina D.

Associações entre os indicadores bioquímicos no início do estudo e as medidas ósseas em todo o grupo estudado foram avaliados após o ajuste pelo estágio puberal por análise de correlação parcial. Os coeficientes de correlação são apresentados na **Tabela 5**. A 25(OH)D no início do estudo se associou positivamente aos parâmetros ósseos (exceto para área óssea) da primeira e segunda avaliações. De fato, estudos têm demonstrado associações positivas entre a 25(OH)D e a DMO de crianças e adolescentes (Viljakainen *et al.*, 2006; Bezerra *et al.*, 2008; Cashman *et al.*, 2008). Considerando que no início do estudo 75% (n=21) dos meninos estudados apresentavam níveis insuficientes de vitamina D, esses resultados fornecem evidências de que um melhor estado de vitamina D poderia beneficiar o processo de mineralização óssea, ainda que os meninos estudados apresentassem massa óssea adequada para a idade. Não foram observadas associações significativas entre o PTH e as variáveis ósseas no início e após 6 meses do estudo, exceto a associação positiva com o incremento da DMO do fêmur ao longo dos seis meses.

Sabe-se que o IGF-I possui um efeito anabólico sobre os osteoblastos, devido ao estímulo da proliferação e diferenciação de condrócitos nas epífises e estímulo à síntese da matriz óssea e, portanto, influencia o crescimento longitudinal do osso (Wang *et al.* 2004).

Consistente com esses efeitos, o IGF-I esteve associado positivamente à área óssea do corpo inteiro e do fêmur proximal tanto na primeira quanto na segunda avaliação. O IGF-I também se associou positivamente ao incremento da DMO e tendeu a se relacionar ao CMO do corpo inteiro ao longo dos seis meses. Dentre as variáveis bioquímicas estudadas, o IGF-I foi o único a se associar positivamente com a retenção de cálcio diária nos meninos que participaram do estudo. De fato o IGF-I é considerado um dos principais preditores de retenção de cálcio em meninos durante a puberdade (Hill *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2010) e aparentemente contribuiu de forma importante tanto para a expansão da área óssea quanto para sua mineralização nos meninos com baixa ingestão de cálcio.

Tabela 5. Associações significativas entre os indicadores bioquímicos no início do estudo e as variáveis ósseas estudadas (n=27) *

	25(OH)D		PTH		IGF-I	
	r	P	R	P	r	P
T1						
DMO total	0,55	0,00	-	-	-	-
Zscore total	0,50	0,00	-	-	-	-
CMO total	0,39	0,05	-	-	-	-
Área total	-	-	-	-	0,54	0,00
DMO fêmur	0,70	0,00	-	-	-	-
Zscore fêmur	0,72	0,00	-	-	-	-
CMO fêmur	0,55	0,00	-	-	-	-
Área fêmur	-	-	-	-	0,49	0,01
T2						
DMO total	0,55	0,00	-	-	-	-
Zscore total	0,35	0,00	-	-	-	-
CMO total	0,35	0,07	-	-	0,38	0,05
Área total	-	-	0,36	0,07	0,56	0,00
DMO fêmur	0,61	0,00	-	-	-	-
Zscore fêmur	0,35	0,07	-	-	-	-
CMO fêmur	0,47	0,01	-	-	-	-
Área fêmur	-	-	-	-	0,49	0,01
Diferença (T2-T1)						
DMO total	-	-	-	-	0,38	0,05
CMO total	-	-	0,36	0,06	0,37	0,06
DMO fêmur	-	-	0,39	0,05	-	-
<i>Retenção diária de cálcio</i>	-	-	-	-	0,40	0,04

*após ajustes pelo estágio puberal por análise de correlação parcial.

6 CONCLUSÃO

Apesar da ingestão de cálcio e do estado insuficiente em vitamina D em 77% dos meninos estudados, verificamos que massa óssea, tanto no início quanto ao final do estudo, encontrava-se adequada para a idade. Além disso, tal como esperado em função do crescimento longitudinal em que os meninos se encontravam, após 6 meses foi observado o aumento da massa óssea em todos os meninos estudados.

A partir da análise do estado nutricional de vitamina D pudemos observar que as concentrações de vitamina D estão sujeitas à variação sazonal, sendo mais elevadas durante os meses de primavera e verão, ainda que a incidência de radiação solar no Brasil seja considerada intensa ao longo do ano.

Nesse estudo foi possível determinar o acúmulo de cálcio nos ossos em um intervalo de aproximadamente seis meses em meninos pré-púberes e púberes habituados a uma baixa ingestão de cálcio. A retenção cálcio diária observada foi similar às de meninos habituados a uma elevada ingestão de cálcio, exceto para os meninos em estágio puberal III. É possível que a ingestão dietética de cálcio observada nos meninos em estágios puberais I e II seja suficiente ainda que corresponda a aproximadamente 50% das atuais recomendações de ingestão de cálcio formuladas por órgãos internacionais, visto que não houve nenhuma evidência de prejuízo da massa óssea. No entanto, a ingestão de cálcio esteve associada à retenção de cálcio diária nos meninos em estágio puberal III, sugerindo que apenas nesse estágio em que a demanda de cálcio para a mineralização óssea é muito elevada, a baixa ingestão de cálcio, aliada ao estado insuficiente de vitamina D parece ser capaz de limitar a aquisição óssea ou ao menos a velocidade de acúmulo da massa óssea. A avaliação do impacto desta menor taxa de acúmulo de cálcio nos ossos observada no estágio puberal III sobre a adequação da massa óssea em estágios puberais mais avançados e/ou sobre o alcance de um pico ótimo de massa óssea no início da vida adulta merece ser investigada.

REFERÊNCIAS

- Abrams SA, *et al.* Developmental changes in calcium kinetics in children assessed using stable isotopes. *J Bone Miner Res.* 1992; 7:287-93.
- Abrams SA, Wen J, Stuff JE. Absorption of calcium, zinc, and iron from breast milk by five- to seven-month-old infants. *Pediatr Res.* 1997; 41(3):384-90.
- Abrams SA, *et al.* Relationships among vitamin D levels, parathyroid hormone, and calcium absorption in young adolescents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(10):5576-81.
- Abrams, SA. Calcium absorption in infants and small children: methods of determination and recent findings. *Nutrients.* 2010; 2(4): 474-80.
- Albano RD e Souza SB. Ingestão de energia e nutrientes por adolescentes de uma escola pública. *J Pediatr.* 2001; 77(6):512-16.
- Bezerra FF, *et al.* Pregnancy and lactation affect markers of calcium and bone metabolism differently in adolescent and adult women with low calcium intakes. *J Nutr.* 2002; 132(8): 2183-7.
- Bailey DA, *et al.* Calcium accretion in girls and boys during puberty: a longitudinal analysis. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 2245-50.
- Bass SL, *et al.* Exercise and calcium combined results in a greater osteogenic effect than either factor alone: a blinded randomized placebo-controlled trial in boys. *J Bone Miner Res.* 2007; 22(3): 458-64.
- Bezerra FF, Mendonça L, Donangelo CM. Bone mass is associated with vitamin D status in lactating adolescent mothers. *FASEB J.* 2008; 22: 458.
- Bonofiglio D, *et al.* Parathyroid hormone is elevated but bonemarkers and density are normal in young female subjects who consume inadequate dietary calcium. *Br J Nutr.* 2000; 84: 111–116.
- Brandão CMA, *et al.* Posições oficiais 2008 da Sociedade Brasileira de Densitometria Clínica (SBDens). *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2009; 53(1): 107-112
- Braun M, *et al.* Calcium retention in adolescent boys on a range of controlled calcium intakes. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84: 814-18.
- Campos LMA, *et al.* Osteoporose na infância e na adolescência. *J Pediatr.* 2003; 79(6) 481-88.
- Cashman K.D. Diet, Nutrition, and Bone Health. *J. Nutr.* 2007; 137: 2507S–2512S

Cashman KD, *et al.* Low vitamin D status adversely affects bone health parameters in adolescents. *Am J Clin Nutr* . 2008; 87: 1039-44.

Chen TC, *et al.* Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D. *Arch Biochem Biophys*. 2007; 460: 213–7.

DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80(suppl): 1689S–96S.

Diogenes MEL, *et al.* Vitamin D receptor gene FokI polymorphisms influence bone mass in adolescent football (soccer) players. *Eur J Appl Physiol*. 2010; 108(1): 31-8.

Ellis KJ, *et al.* Total body calcium and bone mineral content: comparison of dual-energy X-ray absorptiometry with neutron activation analysis. *J Bone Miner Res* . 1996; 11: 843-48.

Fares JE, *et al.* Effect of gender, puberty, and vitamin D status on biochemical markers of bone remodeling. *Bone*. 2003; 33: 242–247.

Fomon, SJ e Nelson SE. Calcium, phosphorus, magnesium, and sulfur. In *Nutrition of Normal Infants*, edited by S. J. Fomon. St. Louis: Mosby-Year Book, Inc. Pp. 1993; 192-216.

Fuleihan GE, *et al.* Hypovitaminosis D in healthy schoolchildren. *Pediatrics*. 2001;107(4): 53.

Foo LH, *et al.* Relationship between vitamin D status, body composition and physical exercise of adolescent girls in Beijing. *Osteoporos Int*. 2009; 20: 417-25.

Jackman LA, *et al.* Calcium retention in relation to calcium intake and postmenarcheal age in adolescents females. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 327-33.

Hill KM, *et al.* Predictors of calcium retention in adolescents boys. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93(12): 4743-4748.

Hoppe C, Mølgaard C, Michaelsen KF. Bone Size and Bone Mass in 10-Year-Old Danish Children: Effect of Current Diet. *Osteoporos Int*. 2000; 11: 1024–1030.

Hunt CD e Johnson LK. Calcium requirements: new estimations for men and women by cross-sectional statistical analyses of calcium balance data from metabolic studies. *Am J Clin Nutr*. 2008; 86(4): 1054-63.

Heaney RP, *et al.* Peak bone mass. *Osteoporos Int*. 2000;11(12): 985-1009.

IOM (Institute of Medicine). Dietary Reference Intakes for calcium and vitamin D. Washington, DC: The National Academies Press, 2011.

Khanal RC e Nemere I. Endocrine regulation of calcium transport in epithelia. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2008; 35: 1277-87.

Matkovic V, *et al.* Timing of peak bone mass in Caucasian females and its implication for the prevention of osteoporosis. *J Clin Invest* . 1994; 93: 799–808.

Matkovic V, *et al.* Nutrition and Bone Health in Children and Adolescents. *Clin Rev Bone Miner Metabol* . 2002; 1(3/4): 233–48.

Molgaard, C; Thomsen, BL; Michaelsen, KF. Whole body bone mineral accretion in healthy children and adolescents. *Arch Dis Child*. 1999; 81: 10–15.

Mundy GR e Guise TA. Hormonal Control of Calcium Homeostasis. *Clin Chem* 1999; 45: 8(B), 1347-1352.

Mora S, Pitukcheewanont P, Nelson JC. Serum levels of Insulin-Like Growth Factor I and the Density, Volume, and Cross-Sectional Area of Cortical Bone in Children. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84: 2780-2783.

Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr*. 2008; 88: 491S-9S.

O'Brien KO, *et al.* Increased efficiency of calcium absorption during short periods of inadequate calcium intake in girls. *Am J Clin Nutr*. 1996; 63: 579-83.

Palacios C, Wigertz K, Martin B. Sweat mineral loss from whole body, patch and arm bag in White and Black girls. *Nutr Res*. 2003; 23: 401-11.

Peacock M. Calcium absorption efficiency and calcium requirements in children and adolescents. *Am J Clin Nutr*. 1991; 54: 261S-265S.

Pesquisa de Orçamento Familiar: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento – Rio de Janeiro: IBGE, 2011.

Peters BSE, *et al.* Prevalence of vitamin D insufficiency in brazilian adolescents. *Ann Nutr Metab*. 2009; 54: 15-21.

Prentice A, Goldberg GR, Schoenmakers I. Vitamin D across the lifecycle: physiology and biomarkers. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 500S-6S.

Rizzoli R, *et al.* Maximizing bone mass gain during growth for the prevention of fractures in the adolescents and the elderly. *Bone*. 2010; 46: 294-305.

Saggese G, Baroncelli GI, Bertelloni S. Puberty and bone development. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2002; 16: 1-31-41.

Tabela brasileira de composição de alimentos - TAC / NEPA-UNICAMP.- T113 Versão II. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006. 105p.

Tabela brasileira de composição de alimentos /IBGE, 4ed. – Rio de Janeiro: IBGE, 1996. 137p.

- Tanner J. Growth at adolescence; with a general consideration of the effects of hereditary and environmental factors upon growth and maturation from birth to maturity. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1962.
- Turnberg LA, Riley SA. Digestion and absorption of nutrients and vitamins. In Sleisenger & Fordtran. *Gastrointestinal Disease*, 5^a ed, Saunders, 1993, p. 977-1008.
- Veldhuis JD, *et al.* Endocrine Control of Body Composition in Infancy, Childhood, and Puberty. *Endocrine Reviews*. 2005; 26: 114–146.
- Vainionpää A, *et al.* Effect of impact exercise on bone metabolism. *Osteoporos Int*, 2009.
- Van Coeverden SCCM, *et al.* Blackwell Science, Ltd Bone metabolism markers and bone mass in healthy pubertal boys and girls. *Clin Endocrinol*, 2002; 57: 107–16.
- Vanderschueren D, *et al.* Androgens and Bone. *Endocr Rev*. 2004; 25: 389–425.
- Vatanparast H, *et al.* Positive effects of vegetable and fruit consumption and calcium intake on bone mineral accrual in boys during growth from childhood to adolescence: the University of Saskatchewan Pediatric Bone Mineral Accrual Study. *Am J Clin Nutr*. 2005; 82: 700–06.
- Vatanparast H, *et al.* Calcium requirements for bone growth in Canadian boys and girls during adolescence. *Br J Nutr* 2010; 103: 575-580.
- Viljakainen HT, *et al.* A positive dose-response effect of vitamin D supplementation on site-specific bone mineral augmentation in adolescent girls: a double-blinded randomized placebo-controlled 1-year intervention. *J Bone Miner Res*. 2006; 21: 836-44.
- Wang J, *et al.* Evidence supporting dual, IGF-I-independent and IGF-I-dependent, roles for GH in promoting longitudinal bone growth. *J Endocrinol*. 2004; 180(2): 247-55.
- Wastney ME, *et al.* Differences in calcium metabolism between adolescent girls and young women. *Am J Physiol*. 1996; 271: R208-216.
- Weaver CM, Proulx WR, Heaney R. Choices for achieving adequate dietary calcium with a vegetarian diet. *Am J Clin Nutr*. 1999; 70(suppl): 543S-8S.
- Weaver CM, Heaney RP. Calcium. *In: Modern Nutrition in Health and Disease*, 10^a edição. Editado por: Maurice E Shills; James A Olson, Moshe Shike, A Catarina Ross. 2006.
- World Health Organization (WHO). Growth reference data for 5-19 years. Acesso em 02/07/2012. Disponível em <http://www.who.int/growthref/en/>.
- Wu LBR, *et al.* Calcium requirements and metabolism in Chinese-American boys and girls. *J Bone Miner Res*. 2010; 25(8): 1842-9.

Yilmaz D, *et al.* Bone mineral density in girls and boys at different pubertal stages: relation with gonadal steroids, bone formation markers, and growth parameters. *J Bone Miner Metab.* 2005; 23: 476–482.

Yasuda H, *et al.* A Novel Molecular Mechanism Modulating Osteoclast Differentiation and Function. *Bone.* 1999; 25: 109 –113.

APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO SOBRE INFORMAÇÕES GERAIS

ESTUDO DE AVALIAÇÃO DA MASSA ÓSSEA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES

Entrevistador: _____ Data: ___/___/___

1. Identificação ID: _____

Nome: _____

Data de Nascimento: ___/___/___ _____ anos

Endereço: _____

Bairro: _____

Município: _____ CEP: _____

Tel: _____ Tel. para contato: _____ Nome: _____

2. Medidas antropométricas

Peso Atual: _____ Kg Altura: _____ cm

3. História Clínica e Nutricional

Peso e altura ao nascer: _____ kg _____ cm

Estágio de maturação segundo Tanner (autoavaliação): _____

Você está atualmente com algum problema de saúde? Sim Não

Qual? _____

Você está atualmente fazendo algum tipo de dieta? Sim Não

Qual? _____

Você tem aversão a algum tipo de alimento? Sim Não Qual? _____

4. Dados Comportamentais

Você fuma? Sim Não Quantos cigarros por dia? _____

Você consome bebidas alcoólicas? Sim Não

Com que frequência? _____

5. Ocupação

Você está estudando atualmente? Sim Não Qual ano escolar? _____

Qual a sua renda familiar? < 1 salário mínimo 1 a 3 salários mínimos

3 a 5 salários mínimos 5 a 7 salários mínimos > 7 salários mínimos

6. Questionário de Atividade física

1. Você praticou esporte ou exercício físico em clubes, academias, escolas de esportes, parques, ruas ou em casa nos últimos 12 meses? 1. Sim 2. Não

2. Qual esporte ou exercício físico você praticou mais frequentemente? _____

3. Quantas horas por dia você praticou? _____

4. Quantas vezes por semana você praticou? _____

5. Quantos meses por ano você praticou? _____

6. Você praticou um segundo esporte ou exercício físico? 1. Sim 2. Não

7. Qual esporte ou exercício físico você praticou? _____

8. Quantas horas por dia você praticou? _____
9. Quantas vezes por semana você praticou? _____
10. Quantos meses por ano você praticou? _____
11. Você praticou um terceiro esporte ou exercício físico? 1. Sim 2. Não
12. Qual esporte ou exercício físico você praticou? _____
13. Quantas horas por dia você praticou? _____
14. Quantas vezes por semana você praticou? _____
15. Quantos meses por ano você praticou? _____
16. Você costuma ir de bicicleta ou a pé para a escola? 1. Sim 2. Não
17. Quantas horas por dia você gasta nessas atividades? _____

7. Dados Socio-Demográficos

Mora com quem? Pais Parentes próximos Abrigos Outros

Nº de pessoas do núcleo: _____ Chefe do núcleo: _____

Profissão do Pai: _____ Profissão da Mãe: _____

Saneamento básico: Sim Não Nº de cômodos totais: _____

Qual a cor da sua pele? branca amarela, oriental negra

parda, mulata, morena ou cabloca indígena

Cor (observação do entrevistador): branca amarela negra

parda, mulata, morena ou cabloca indígena

Cor (de acordo com o exame realizado): _____

Tem o hábito de usar filtro solar? não sim

Qual? _____ Frequência por semana: _____ Passa quantas vezes ao dia? _____

Tem o hábito de tomar sol? : não sim

Frequência por semana _____ Horas por dia _____

APÊNDICE B - CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO COMO VOLUNTÁRIO

Nome: _____ Data: ____/____/____

Você está sendo convidado a participar do projeto “Estado nutricional de vitamina D: implicações para a massa óssea de crianças e adolescentes ” que tem por objetivo avaliar a relação entre o estado nutricional de vitamina D e a adequação da massa óssea de adolescentes fisicamente ativos.

Este estudo será realizado pela nutricionista Bárbara de Freitas Moura sob a orientação da Dra. Flávia Fioruci Bezerra, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Participando deste estudo você será solicitado a fazer exames de sangue e densitometria óssea (DEXA) que serão realizados na UERJ. Além disso, participará de uma entrevista individual onde serão levantadas informações sobre sua vida e consumo de alimentos.

Sua participação neste estudo não coloca em nenhum risco a sua saúde e você poderá solicitar esclarecimentos e/ou desistir de participar em qualquer momento sem qualquer constrangimento. A participação neste estudo não é obrigatória e não contempla nenhuma remuneração.

Participando deste estudo você receberá uma avaliação nutricional completa e os resultados das análises de laboratório e exames gratuitos de densitometria óssea, que é um exame simples, indolor e que ajuda a prevenir a osteoporose.

Os pesquisadores responsáveis encontram-se a disposição para maiores esclarecimentos nos seguintes telefones: 25877747 R.218, 99970359, 85592002.

Eu concordo em participar deste estudo e seguir os procedimentos descritos pelo pesquisador.

Assinatura do responsável

Assinatura do pesquisador