UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Departamento de Clínica Médica

SÉRGIO LUCHINI BATISTA

Osteoporose na doença de Cushing: valor preditivo da quantificação de adiposidade visceral e óssea sobre a remodelação e densidade mineral óssea

RIBEIRÃO PRETO
2016

SÉRGIO LUCHINI BATISTA

Osteoporose na doença de Cushing: valor preditivo da quantificação de adiposidade visceral e óssea sobre a remodelação e densidade mineral óssea

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de doutorado em medicina

Área de concentração: Clínica Médica

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Albuquerque de Paula

RIBEIRÃO PRETO
2016

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Sérgio Luchini Batista

Osteoporose na doença de Cushing: valor preditivo da quantificação de adiposidade visceral e óssea sobre a remodelação e densidade mineral óssea. Ribeirão Preto, 2016.
140 p. : il.; 30cm

Tese de doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Albuquerque de Paula

1.Doença de Cushing. 2.Osteoporose. 3.Ressonância magnética. 4.Densitometria óssea.

Nome: Batista, S.L.

Título: Osteoporose na doença de Cushing: valor preditivo da quantificação de adiposidade visceral e óssea sobre a remodelação e densidade mineral óssea.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo para obtenção do título de doutorado em medicina.
Área de concentração: Clínica Médica

Aprovado em: _____ de _____ de 2016

Prof. Dr. Francisco José Albuquerque de Paula

Instituição: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição:

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Sumário

SUMÁRIO **5**
EPÍGRAFE **7**
DEDICATÓRIA **8**
AGRADECIMENTOS **9**
RESUMO **10**
ABSTRACT **12**
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS **14**
LISTA DE FIGURAS **17**
LISTA DE TABELAS **20**
LISTA DE ANEXOS **22**
INTRODUÇÃO **24**
OBJETIVO GERAL **38**
OBJETIVOS ESPECÍFICOS 38
MATERIAIS E MÉTODOS **40**
DESENHO DO ESTUDO 40
CRITÉRIOS DE INCLUSÃO 40
CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO 41
CASUÍSTICA 41
Grupo doença de Cushing (DC) *41*
Grupos controle não obeso (C) e controle obeso (O) *42*
MEDIDAS DE BIOQUÍMICA GERAL E OSTEOMETABÓLICA 43
DENSITOMETRIA ÓSSEA 45
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA (RM) 45
Protocolo de aquisição de imagens de coluna por espectroscopia (MRS) *45*
Protocolo de aquisição de imagens de RM de abdômen *46*
ANÁLISE ESTATÍSTICA 49
Estudo basal *49*
Estudo prospectivo *49*
Cushing basal *49*
Análise dos dados agrupados *49*
ESTUDO BASAL - RESULTADOS **51**
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS 51
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS 52
DENSITOMETRIA ÓSSEA 59
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA 69
CORRELAÇÕES 73

ESTUDO PROSPECTIVO – RESULTADOS **78**
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS 78
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS 79
TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (GTT) 85
DENSITOMETRIA ÓSSEA 89
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA 98
CORRELAÇÕES 102
DISCUSSÃO **106**
CONCLUSÃO **115**
CONSIDERAÇÕES FINAIS **118**
BIBLIOGRAFIA **120**
ANEXOS **131**

Epígrafe

"Tu voltarás para me dizer adeus, e eu te presentearei com um segredo."
[...]
"É muito simples: só se vê bem com o coração. O essencial é invisível aos olhos."

"Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas."

A raposa e o príncipe - O pequeno príncipe
Antoide de Saint-Exupéry

Dedicatória

À minha esposa, pelo apoio e amor incondicionais, sem os quais não teria forças para completar esta tarefa.

Aos meus filhos, que são a razão pela qual tudo faço.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus por permitir minha existência neste tempo e espaço, proporcionando as circunstâncias necessárias e determinantes para que este trabalho pudesse ser concebido e realizado.

Aos meus pais, avós, irmãos e familiares que me guiaram e me apoiaram neste caminho árduo, porém recompensador.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Francisco José Albuquerque de Paula, exemplo de caráter e disciplina. Agradeço o privilégio de poder ter vivido e aprendido ao seu lado.

Aos professores Marcello Henrique Nogueira Barbosa, Carlos Ernesto Garrido Salmón e Jorge Elias Júnior, que colaboraram com as técnicas de aquisição e de análise dos exames de ressonância magnética, além dos professores Ayrton Custódio Moreira e Margaret de Castro, que disponibilizaram gentilmente os pacientes do Ambulatório de Neuroendocrinologia, e também à professora Maria Cristina Foss-Freitas pela disponibilização do Laboratório de Diabetes e Metabolismo.

Aos técnicos do Laboratório de Endocrinologia, Marta Tocico Nakao Inouye Maibashi, pelo companheirismo e carinho, Milena Saavedra Lopes do Amaral, Maria Aparecida Yoshiko Hirassawa Matuyama, Helen Alves de Oliveira e Sebastião Lázaro Brandão Filho, pelo auxílio, apoio e amizade.

Aos técnicos do Centro de Ciências da Imagem e Física Médica, Rita de Cássia Cocenza Varrichio, Maria Rosário Lopes da Silva Luiz, Luciana Maria Mijoler da Cunha e Rodrigo Antônio Pessini, cujos esforços foram essenciais para realização deste trabalho.

Aos meus colegas de trabalho, Paula Condè Lamparelli Elias, Adriana Lélis Carvalho, Luciana Tabajara Parreiras e Silva, Adriano Levi Spirlandeli, Iana Mizumukai de Araújo, Maria Augusta Viana de Sousa Diogo Alencar e Clara Maia Bastos, pela companhia, troca de experiências, amizade e colaboração na coleta dos dados.

Aos pacientes e voluntários que se dispuseram a participar, contribuindo valiosamente para este trabalho, pois sem eles isto seria impossível.

À Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência (FAEPA) pelo auxílio financeiro para a realização desta pesquisa.

Osteoporose na doença de Cushing: valor preditivo da quantificação de adiposidade visceral e óssea sobre a remodelação e densidade mineral óssea

Resumo

As propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras dos glicocorticoides (GC) justificam o uso destes esteroides em diversas condições clínicas, apesar dos seus importantes efeitos adversos. A osteoporose induzida por glicocorticoide (OIG) é considerada a causa mais importante de osteoporose secundária. Trata-se de uma doença multifatorial que envolve alterações sistêmicas, teciduais e da sinalização das células ósseas. Além disso, o hipercortisolismo também se associa à obesidade, redistribuição de gordura, resistência insulínica e *diabetes mellitus*. Curiosamente, nestes distúrbios metabólicos em que a massa óssea está preservada, há maior fragilidade óssea. Nos últimos anos, diversas evidências mostram complexa interação entre o metabolismo mineral e o energético, em particular entre o tecido adiposo e ósseo. Neste cenário, a doença de Cushing (DC) é um modelo clínico conveniente para avaliar diversos mecanismos envolvidos no complexo processo de desenvolvimento de osteoporose.

O objetivo deste trabalho foi avaliar, em um estudo basal e em um estudo prospectivo, diversos aspectos da interação entre o metabolismo mineral e energético em mulheres com DC e o seu possível impacto sobre a massa óssea, bem como a associação entre a massa óssea e os diversos tipos de tecido adiposo. No estudo basal, avaliamos três grupos de indivíduos, pareados por sexo e idade: grupo controle (C; n=27), grupo obeso (O; n=16) e grupo doença de Cushing (DC; n=16). No estudo prospectivo, avaliamos o grupo DC em três momentos: pré-operatório (Pré-op; n=11), 6º mês pós-operatório (6º mês PO; n=10) e 12º mês pós-operatório (12º mês PO; n= 10).

No estudo basal, os grupos O e DC diferiram em relação ao C quanto ao peso e IMC ($p<0,05$). O grupo DC apresentou valores significativamente maiores de glicemia, insulinemia, hemoglobina glicosilada (HbA1c), HOMA-IR e leptina em relação aos grupos C e O ($p<0,05$). Adicionalmente, o grupo DC mostrou níveis baixos de osteocalcina em relação aos grupos C e O ($p<0,05$) e também de PTH, 25-OH vitamina D (25(OH)D) e adiponectina em relação ao grupo C ($p<0,05$). Não houve diferença entre os grupos em relação às dosagens de IGF-I e *preadipocyte factor 1* (Pref-1). O grupo DC apresentou menor massa óssea em

coluna lombar em relação aos grupos C e O ($p<0,05$) e menor massa óssea em corpo total quando comparado ao grupo O ($p<0,05$). O *Trabecular bone score* (TBS) foi capaz de evidenciar prejuízo na qualidade óssea nos grupos O e DC, mostrando comprometimento maior no grupo DC ($p<0,05$). A adiposidade de medula óssea (AMO) de L3 foi significativamente maior no grupo DC em relação aos grupos C e O ($p<0,05$). O grupo DC apresentou maior teor de tecido adiposo subcutâneo (SAT), visceral (VAT), relação VAT/SAT e de lipídeos intra-hepáticos (IHL) em relação ao grupo C ($p<0,05$). Adicionalmente, o grupo DC apresentou maior teor de VAT em relação ao grupo O ($p<0,05$). A osteocalcina se correlacionou de maneira positiva com TBS ($r=0,5$, $p<0,0001$) e negativa com HOMA-IR ($r=-0,4$, $p<0,01$) e AMO de L3 ($r=-0,4$, $p<0,01$). O TBS apresentou correlação negativa com HOMA-IR ($r=-0,6$, $p<0,0001$) e AMO de L3 ($r=-0,5$, $p<0,001$). A AMO de L3 se correlacionou positivamente com IMC ($r=0,4$, $p<0,01$), HOMA-IR ($r=0,3$, $p<0,05$), leptina ($r=0,3$, $p<0,05$), relação VAT/SAT ($r=0,6$, $p<0,0001$) e IHL ($r=0,5$, $p<0,05$).

No estudo prospectivo, houve redução do peso e IMC e dos níveis de glicemia, insulinemia, HOMA-IR, hemoglobina glicada e leptina ($p<0,05$). Adicionalmente, houve aumento dos níveis de 25(OH)D, osteocalcina e deoxipiridinolina ($p<0,05$). Não houve diferenças significativas entre os níveis de Pref-1 e adiponectina. O TBS manteve-se estável e não houve aparecimento de novas fraturas pelo *vertebral fracture assessment* (VFA). Na composição corporal por *dual-energy X-ray absorptiometry* (DXA), houve redução da massa gorda total e melhora no índice de massa magra apendicular pelo *Foundation for the National Institutes of Health* (FNIH) ($p<0,05$). A AMO de L3 reduziu significativamente no 6º mês PO, mantendo-se estável no 12º mês PO ($p<0,05$). Houve redução significativa do VAT, relação VAT/SAT e IHL no seguimento prospectivo ($p<0,05$).

O presente estudo reafirma dados anteriores que mostram que o hipercortisolismo endógeno exerce profundo efeito negativo sobre o esqueleto, em particular sobre o osso trabecular. Além disto, é o primeiro estudo a mostrar que existe correlação negativa entre o TBS com HOMA-IR e AMO; é possível que as alterações do metabolismo energético sejam, pelo menos em parte, responsáveis pelo maior risco de fratura na DC.

Palavras chave: doença de Cushing, osteoporose, ressonância magnética, densidade mineral óssea

Osteoporosis in Cushing's disease: predictive value of measurement of visceral and bone fat on bone remodeling and mineral density

Abstract

The anti-inflammatory and immunosuppressive properties of glucocorticoids (GC) justify the use of these steroids in various clinical conditions, despite its significant adverse effects. Osteoporosis induced by glucocorticoids (OIG) is considered the most important cause of secondary osteoporosis. It is a multifactorial disease involving systemic, tissue and bone cell signaling changes. Furthermore, hypercortisolism is also associated with obesity, redistribution of fat, insulin resistance and diabetes mellitus. Interestingly, these metabolic disorders in which bone mass is preserved, there is increased bone fragility. In recent years, evidence shows various complex interaction between the mineral and energy metabolism, in particular between adipose tissue and bone. In this scenario, Cushing's disease (CD) is a desirable clinical model to evaluate various mechanisms involved in the complex process of developing osteoporosis.

The objective of this study was to evaluate, in a baseline study and a prospective study, various aspects of the interaction between the mineral and energy metabolism in women with DC and their possible impact on bone mass, as well as the association between bone mass and different types of adipose tissue. In the baseline study, we evaluated three groups of individuals, matched by sex and age: control group (C, n = 27), obese (O; n = 16) and Cushing's disease group (CD, n = 16). In the prospective study, we evaluated the CD group at three time points: preoperative (Pre-op; n = 11), 6 months postoperative (6th month PO; n = 10) and 12 months postoperatively (12th month PO; n = 10).

In the baseline study, the O and CD groups differed in relation to C as the weight and BMI ($p < 0.05$). The CD group showed significantly higher blood glucose, insulin, glycosylated hemoglobin (HbA1c), HOMA-IR and leptin in relation to the C and O groups ($p < 0.05$). Additionally, the CD group showed lower levels of osteocalcin in relation to the C and O groups ($p < 0.05$) as well as PTH, 25-OH vitamin D (25 (OH) D), and adiponectin in relation to the C group ($P < 0.05$). There was no difference between the groups regarding dosages of IGF-I and preadipocyte factor 1 (Pref-1). The CD group had lower bone mass in the lumbar spine in relation to the C and O groups ($p < 0.05$) and lower bone mass in the total

body when compared to the O group (P <0.05). The Trabecular bone score (TBS) was able to show impaired bone quality in groups O and CD, showing greater involvement in CD group (p <0.05). Bone marrow adiposity (BMA) in L3 was significantly higher in the CD group compared to the C and O groups (p <0.05). The CD group showed increased subcutaneous fat content (SAT), visceral (VAT), VAT/SAT ratio and intrahepatic lipid (IHL) in relation to the C group (p<0.05). Additionally, the CD group had a higher content of VAT in relation to the O group (p<0.05). Osteocalcin correlated positively with TBS (r = 0.5, p <0.0001) and negatively with HOMA-IR (r = -0.4, p <0.01) and AMO of L3 (r = - 0.4, p <0.01). The TBS was negatively correlated with HOMA-IR index (r = -0.6, p <0.0001) and AMO of L3 (r = -0.5, p <0.001). The AMO of L3 positively correlated with BMI (r = 0.4, p <0.01), HOMA-IR (r = 0.3, p <0.05), leptin (r = 0.3, p < 0.05), VAT/SAT ratio (r = 0.6, p <0.0001) and IHL (r = 0.5, p <0.05).

In the prospective study, there was a reduction in weight and BMI and blood glucose, insulin, HOMA-IR, glycated hemoglobin and leptin (p <0.05). Additionally, there was increased levels of 25(OH)D, osteocalcin and deoxypyridinoline (p <0.05). There were no significant differences between the levels of adiponectin and Pref-1. The TBS was stable and there was no occurance of new fractures by vertebral fracture assessment (VFA). In body composition by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA), threre was a reduction of total fat mass and improvement in apendicular lean body mass index by Foundation for the National Institutes of Health (FNIH) (p <0.05). The BMA of L3 significantly reduced in the 6th month PO, remaining stable on the 12th month PO (p <0.05). There was a significant reduction of VAT, VAT/SAT ratio and IHL in the prospective follow-up (p <0.05).

This study confirms previous data showing that endogenous hypercortisolism has a profound negative effect on the skeleton, in particular on trabecular bone. Moreover, it is the first study to show that there is a negative correlation between TBS with HOMA-IR and BMA; it is possible that changes in energy metabolism are at least partly responsible for the increased risk of fracture in DC.

Keywords: Cushing's disease, osteoporosis, magnetic resonance, bone mineral density

Lista de abreviaturas e siglas

%	Por cento
µg	Microgramas
µUI	Microunidade internacional
11β-HSD1	11β-hidroxiesteroide desidrogenase tipo 1
25(OH)D	25-hidroxivitamina D
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AMO	Adiposidade de medula óssea
AUC	Área sob a curva
C	Controle
C/EBP	CCAAT/*enhancer binding protein*
CA	Circunferência abdominal
CCIFM	Centro de Ciências da Imagem e Física Médica
CKD-EPI	*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*
cm	Centímetros
CSF-1	*Colony-stimulating factor 1*
CV	Coeficiente de Variação
DC	Doença de Cushing
DHEAS	Sulfato de deidroepiandrosterona
DKK-1	*Dickkopf-1*
dL	Decilitro
DM 1	*Diabetes melittus* tipo 1
DM 2	*Diabetes melittus* tipo 2
DMO	Densidade mineral óssea
DP	Desvio padrão
DXA	*Dual-energy X-ray absorptiometry*
EAC	Escore de atividade clínica
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ESCPG	*Endocrine Society Clinical Practice Guideline*
FA	Fosfatase alcalina
FAEPA	Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência

FMRP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
FNIH	*Foundation for the National Institutes of Health*
g	Gramas
GC	Glicocorticoides
GH	Hormônio de crescimento
GTT	Teste oral de tolerância à glicose
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HC	Hospital das Clínicas
HOMA-IR	*Homeostatic model assessment - insulin resistance*
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
IGF-I	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo I
IHL	Lipídeos intra-hepáticos
IMC	Índice de massa corporal
IMG	Índice de massa gorda
IMMA	Índice de massa magra apendicular
IOM	*Institute of Medicine*
IS	Intensidade de sinal
Kg	Quilogramas
L	Litros
L3	Terceira vértebra da coluna lombar
m	Metros
m€q	Miliequivalente
mg	Miligramas
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mmol	Milimol
MRS	Espectroscopia por ressonância magnética
ms	Milissegundos
n	Número de indivíduos
NA	Não avaliado

ng	Nanogramas
nmol	Nanomol
O	Obeso
OIG	Osteoporose induzida por glicocorticoide
OPG	Osteoprotegerina
pg	Picogramas
PO	Pós-operatório
PPARγ2	*Peroxisome proliferator-activated receptor γ 2*
ppm	Partes por milhão
Pref-1	*Preadipocyte factor 1*
Pré-op	Pré-operatório
PRESS	*Point resolved spectroscopy*
PTH	Paratormônio
RANK	Receptor ativador do fator nuclear kappa-B
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa-B
RM	Ressonância magnética
RNA	Ácido ribonucléico
ROI	Região de interesse
s	segundos
SAT	Tecido adiposo subcutâneo
TBS	*Trabecular bone score*
TC	Tomografia computadorizada
TE	Tempo de eco
TR	Tempo de repetição
U	Unidade
UFC	Cortisol livre urinário
USP	Universidade de São Paulo
VAT	Tecido adiposo visceral
VFA	*Vertebral fracture assessment*
vs	*Versus*
Wnt	*Wingless-type*

Lista de figuras

Figura 1 - Mecanismos de ação direta e indireta dos glicocorticoides sobre o metabolismo ósseo (Mar*cus et* al., 2013) (adaptado) 25
Figura 2 - Mecanismos diretos de ação do cortisol pela via RANK/RANKL/OPG (Richa*rds et* al., 2012) (adaptado). 30
Figura 3 - Mecanismos de ação do cortisol nas células-tronco mesenquimais da medula óssea e no microambiente das células (Toth e Grossman, 2013) (adaptado). 32
Figura 4 – Imagem de ressonância magnética de coluna lombar, no ambiente do *software LCModel*, ilustrando *voxel* no centro do corpo de terceira vértebra lombar (canto superior esquerdo) e respectivo gráfico de espectroscopia de prótons da medula óssea vertebral com dois picos, um correspondente à quantidade de água e o outro à quantidade de gordura (canto inferior direito). 47
Figura 5 – Imagem de ressonância magnética de abdômen, em corte transversal, no ambiente do *software Display*. A área marcada em vermelho foi usada para cálculo do tecido adiposo subcutâneo, enquanto que a área marcada em verde foi usada para cálculo do tecido adiposo visceral. 48
Figura 6 – Regiões de interesse selecionadas em imagem de ressonância magnética de abdômen, no ambiente do *software Display*, para cálculo de lipídeos intra-hepáticos. 48
Figura 7 – O gráfico mostra os resultados de glicose sérica (mg/dL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....54
Figura 8 – O gráfico mostra os resultados de insulina sérica (µUI/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....54
Figura 9 – O gráfico mostra os resultados de hemoglobina glicosilada (%) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing 55
Figura 10 – O gráfico mostra os resultados de HOMA-IR dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....55
Figura 11 – O gráfico mostra os resultados de osteocalcina sérica (ng/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing 56
Figura 12 – O gráfico mostra os resultados de leptina sérica (ng/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....56
Figura 13–O Gráfico mostra os resultados de fosfatase alcalina sérica (U/L) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing 57
Figura 14–O gráfico mostra os resultados de 25-hidroxivitamina D sérica (ng/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....57
Figura 15 – O gráfico mostra os resultados de paratormônio sérico (pg/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing 58
Figura 16 – O gráfico mostra os resultados de adiponectina sérica (ng/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing 58
Figura 17 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de coluna lombar (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....61

Figura 18 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea quadril total (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing 61
Figura 19 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de colo do fêmur (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....62
Figura 20 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de antebraço total (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....62
Figura 21 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de terço de rádio (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....63
Figura 22 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de corpo total (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....63
Figura 23 – O gráfico mostra os resultados de *trabecular bone score* de coluna lombar dos grupos controle, obeso e doença de Cushing 65
Figura 24 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa gorda (Kg/m²) obtidos por composição corporal dos grupos controle, obeso e doença de Cushing 67
Figura 25 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa magra apendicular (Kg/m²) obtidos por composição corporal pelos critérios de Baumgartner dos grupos controle, obeso e doença de Cushing 68
Figura 26 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa magra apendicular (m²) obtidos por composição corporal pelos critérios do FNIH dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....68
Figura 27 – O gráfico mostra os resultados de adiposidade de medula óssea de terceira vértebra lombar (%) obtidos por ressonância magnética nos grupos controle, obeso e doença de Cushing 69
Figura 28 – O gráfico mostra os resultados da área de tecido adiposo subcutâneo (mm²) obtidos por ressonância magnética nos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....71
Figura 29 – O gráfico mostra os resultados da área de tecido adiposo visceral (mm²) obtidos por ressonância magnética nos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....71
Figura 30 – O gráfico mostra os resultados da relação das áreas entre tecido adiposo visceral e subcutâneo obtidos por ressonância magnética nos grupos controle, obeso e doença de Cushing 72
Figura 31 – O gráfico mostra os resultados de lipídeos intra-hepáticos (%) obtidos por ressonância magnética nos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....72
Figura 32 – O gráfico mostra os resultados de glicose sérica (mg/dL) dos indivíduos no estudo prospectivo.....81
Figura 33 – O gráfico mostra os resultados de insulina sérica (µUI/mL) dos indivíduos no estudo prospectivo ..82
Figura 34 – O gráfico mostra os resultados de HOMA-IR dos indivíduos no estudo prospectivo 82
Figura 35 – O gráfico mostra os resultados de 25-hidroxivitamina D sérica (ng/mL) dos indivíduos no estudo prospectivo.....83
Figura 36 – O gráfico mostra os resultados de osteocalcina sérica (ng/mL) dos indivíduos no estudo prospectivo 83
Figura 37 – O gráfico mostra os resultados de deoxipiridinolina urinária (nmol/mmol) dos indivíduos no estudo prospectivo.....84
Figura 38 – O gráfico mostra os resultados de hemoglobina glicosilada (%) dos indivíduos no estudo prospectivo 84
Figura 39 – O gráfico mostra os resultados de leptina sérica (ng/mL) dos indivíduos no estudo prospectivo 85

Figura 40 – O gráfico mostra as curvas de glicemia (mg/dL) durante o teste oral de tolerância à glicose 88
Figura 41 – O gráfico mostra as curvas de insulina (µUI/mL) durante o teste oral de tolerância à glicose 88
Figura 42 – O gráfico mostra as curvas de osteocalcina (ng/mL) durante o teste oral de tolerância à glicose 89
Figura 43 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de coluna lombar (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo 91
Figura 44 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de quadril total (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo 91
Figura 45 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de colo do fêmur (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo 92
Figura 46 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de antebraço total (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo 92
Figura 47 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de terço de rádio (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo 93
Figura 48 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de corpo total (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo 93
Figura 49 – O gráfico mostra os resultados de *trabecular bone score* de coluna lombar dos indivíduos no estudo prospectivo 94
Figura 50 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa gorda (Kg/m²) obtidos por composição corporal dos indivíduos no estudo prospectivo 97
Figura 51 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa magra apendicular (Kg/m²) obtidos por composição corporal pelos critérios de Baumgartner dos indivíduos no estudo prospectivo 97
Figura 52 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa magra apendicular (m²) obtidos por composição corporal pelos critérios do FNIH dos indivíduos no estudo prospectivo 98
Figura 53 – O gráfico mostra os resultados de adiposidade de medula óssea em terceira vértebra lombar (%) obtidos por ressonância magnética dos indivíduos no estudo prospectivo 99
Figura 54 – O gráfico mostra os resultados da área de tecido adiposo subcutâneo (mm²) obtidos por ressonância magnética dos indivíduos no estudo prospectivo 100
Figura 55 – O gráfico mostra os resultados da área de tecido adiposo visceral (mm²) obtidos por ressonância magnética dos indivíduos no estudo prospectivo 101
Figura 56 – O gráfico mostra os resultados da relação das áreas de tecido visceral e adiposo obtidos por ressonância magnética dos indivíduos no estudo prospectivo 101
Figura 57 – O gráfico mostra os resultados de lipídeos intra-hepáticos (%) obtidos por ressonância magnética dos indivíduos no estudo prospectivo 102

Lista de tabelas

Tabela 1 - Média e desvio-padrão da caracterização antropométrica dos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....51
Tabela 2 - Resultados dos exames bioquímicos nos grupos controle, obeso e doença de Cushing 53
Tabela 3 – Classificação dos níveis de 25-hidroxivitamina D nos grupos de acordo com o IOM nos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....53
Tabela 4 – Classificação dos níveis de 25-hidroxivitamina D nos grupos de acordo com a ESCPG nos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....53
Tabela 5 - Resultados da densitometria óssea para os grupos controle, obeso e doença de Cushing.....60
Tabela 6 - Resultados da classificação dos indivíduos segundo o Z-score nos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....60
Tabela 7 – Resultados de *Trabecular Bone Score* dos grupos controle, obeso e doença de Cushing 64
Tabela 8 - Resultados da composição corporal através de densitometria para os grupos controle, obeso e doença de Cushing 66
Tabela 9 - Resultados da classificação dos indivíduos segundo a composição corporal por densitometria nos grupos controle, obeso e doença de Cushing.....67
Tabela 10 - Resultados de espectroscopia de prótons por ressonância magnética em coluna lombar para os grupos controle, obeso e doença de Cushing.....69
Tabela 11 - Resultados da ressonância magnética de abdômen para os grupos controle, obeso e doença de Cushing.....70
Tabela 12 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo e peptídeos de origem no tecido adiposo com as medidas de composição corporal por DXA e de adiposidade obtidas por RM no estudo basal dos grupos C (n=27), O (n=16) e DC (n=16).....74
Tabela 13 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo e peptídeos de origem no tecido adiposo com densidade mineral óssea e TBS no estudo basal dos grupos C (n=27), O (n=16) e DC (n=16) 75
Tabela 14 - Valores (r) da correlação entre medidas de adiposidade obtidas através de composição corporal por DXA e por RM com densidade mineral óssea e TBS no estudo basal dos grupos C (n=27), O (n=16) e DC (n=16).....75
Tabela 15 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo, peptídeos de origem no tecido adiposo com as medidas de composição corporal por DXA e de adiposidade obtidas por RM no estudo basal do grupo DC (n=16).....76
Tabela 16 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo, peptídeos de origem no tecido adiposo com densidade mineral óssea e TBS no estudo basal do grupo DC (n=16).....76
Tabela 17 - Valores (r) da correlação entre medidas de adiposidade obtidas através de composição corporal por DXA e por RM com densidade mineral óssea e TBS no estudo basal do grupo DC (n=16).....77
Tabela 18 - Média e desvio-padrão da caracterização antropométrica dos indivíduos na avaliação prospectiva ..78

Tabela 19 - Resultados dos exames bioquímicos dos grupos na avaliação prospectiva 80
Tabela 20 – Classificação dos níveis de 25-hidroxivitamina D nos grupos de acordo com o IOM na avaliação prospectiva 81
Tabela 21 – Classificação dos níveis de 25-hidroxivitamina D nos grupos de acordo com a ESCPG na avaliação prospectiva 81
Tabela 22 – Resultados em média e desvio-padrão da glicemia, insulinemia e osteocalcina sérica durante os diversos tempos no teste oral de tolerância à glicose (GTT) 87
Tabela 23 - Resultados da área sob a curva de glicemia, de insulina e de osteocalcina para os grupos na avaliação prospectiva 87
Tabela 24 - Resultados da densitometria óssea para os grupos na avaliação prospectiva 90
Tabela 25 - Resultados da classificação dos indivíduos segundo o Z-score na avaliação prospectiva.....90
Tabela 26 – Resultados de *Trabecular Bone Score* dos indivíduos na avaliação prospectiva 94
Tabela 27 - Resultados da composição corporal através de densitometria para os grupos na avaliação prospectiva 96
Tabela 28 - Resultados da classificação dos indivíduos segundo a composição corporal por densitometria na avaliação prospectiva 96
Tabela 29 - Resultados de espectroscopia de prótons por ressonância magnética em coluna lombar na avaliação prospectiva 98
Tabela 30 - Resultados do exame de ressonância magnética de abdômen para os grupos na avaliação prospectiva 100
Tabela 31 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo, peptídeos de origem no tecido adiposo com as medidas de composição corporal por DXA e de adiposidade obtidas por RM no estudo prospectivo dos períodos Pré-op (n=11), 6° mês PO (n=10) e 12° mês PO (n=10) 103
Tabela 32 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo, peptídeos de origem no tecido adiposo com densidade mineral óssea e TBS no estudo prospectivo dos períodos Pré-op (n=11), 6° mês PO (n=10) e 12° mês PO (n=10).....104
Tabela 33 - Valores (r) da correlação entre medidas de adiposidade obtidas através de composição corporal por DXA e por RM com densidade mineral óssea e TBS no estudo prospectivo dos períodos Pré-op (n=11), 6° mês PO (n=10) e 12° mês PO (n=10) 104

Lista de anexos

Anexo 1 - Dados antropométricos individuais do grupo controle (C) 131
Anexo 2 - Dados antropométricos individuais do grupo obeso (O) 132
Anexo 3 - Dados antropométricos individuais do grupo DC 133
Anexo 4 - Dados antropométricos individuais na avaliação prospectiva do Pré-op 134
Anexo 5 - Dados antropométricos individuais na avaliação prospectiva do 6º mês PO 135
Anexo 6 - Dados antropométricos individuais na avaliação prospectiva do 12º mês PO 136
Anexo 7 - Escala para avaliação do Escore de Atividade Clínica da Doença de Cushing 137
Anexo 8 - Termo de consentimento livre e esclarecido 138

1. INTRODUÇÃO

Introdução

Inicialmente descrita em 1932 por Harvey Cushing, a doença de Cushing (DC) é uma doença que se caracteriza pelo aumento da produção e secreção dos glicocorticoides (GC) e andrógenos adrenais, causada pela hiperestimulação devido a um adenoma hipofisário funcionante, secretor de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). A importância da doença óssea no hipercortisolismo endógeno não passou despercebida na descrição original de Harvey Cushing, e é considerado até hoje um componente de alto valor preditivo da doença em indivíduos com esta hipótese diagnóstica. A prevalência de osteoporose na DC varia de 3 a 15% nos estudos dependendo do critério adotado no diagnóstico e no perfil de gravidade do hipercortisolismo do grupo avaliado (Cushing, 1932; Faggiano *et al.*, 2001; Kaltsas *et al.*, 2002; Arnaldi *et al.*, 2003; Van Der Eerden *et al.*, 2007). Além disso, a DC apresenta manifestações clínicas que envolvem obesidade, hiperglicemia, resistência insulínica, hipertensão arterial, miopatia com fraqueza proximal, fragilidade capilar, baixa imunidade, alterações de humor e disfunção sexual, além de distúrbio de crescimento em crianças e adolescentes (A*bad et* al., 2001).

Neste contexto, a doença óssea, que muitas vezes não é valorizada na prática clínica, resulta de um processo complexo que envolve alterações hormonais como disfunção gonadal, prejuízo na secreção de hormônio do crescimento (GH) e do fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I), alterações no metabolismo energético, alterações no metabolismo do cálcio com redução na absorção intestinal associado ao aumento da excreção renal deste elemento, além das ações do cortisol sobre as células ósseas, tanto por mecanismos diretos como indiretos (Figura 1). Estas alterações hormonais são tão evidentes que inicialmente se considerou que este mecanismo seria o principal determinante das manifestações ósseas no hipercortisolismo. Adicionalmente, a miopatia proximal que esses indivíduos apresentam

pode aumentar o risco de quedas e, consequentemente, de fraturas. Outro papel atribuído à musculatura, que é manter massa óssea através de tônus muscular e por estímulo através de contrações intensas, estaria prejudicado pela miopatia na DC (Ziegler e Kasperk, 1998; Manelli e Giustina, 2000; Kaltsas *et al.*, 2002).

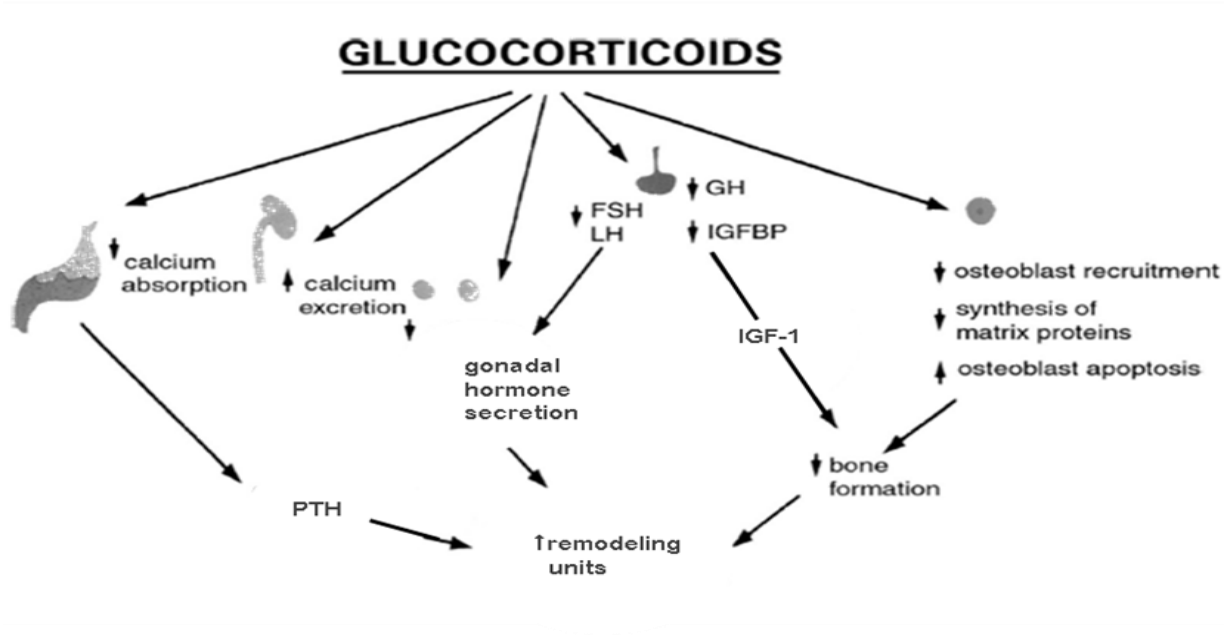

Figura 1 - Mecanismos de ação direta e indireta dos glicocorticoides sobre o metabolismo ósseo (Mar*cus et* al., 2013) (adaptado)

Uma particularidade da DC, em relação ao hipercortisolismo exógeno, é a presença de estímulo de produção de andrógenos pelas adrenais, além do cortisol. Os andrógenos poderiam ter um papel protetor na manutenção da massa óssea, pois foi demonstrado que a osteoporose por hipersecreção pura de cortisol em síndrome de Cushing de origem tumoral adrenal manifesta-se de maneira mais grave (Ohmori *et al.*, 2003; Minetto *et al.*, 2004). Em contrapartida, existem estudos que mostram não haver diferenças quanto à doença óssea na DC em mulheres com e sem amenorreia. Mulheres eumenorreicas com diagnóstico recente de

síndrome de Cushing foram avaliadas por densitometria óssea (DXA), onde se demonstrou que a perda óssea trabecular, avaliada em coluna lombar, é mais acentuada do que a perda óssea no esqueleto periférico, avaliada em antebraço distal (Karavitaki *et* al., 2004). Em outro estudo, observou-se não haver diferenças de densidade mineral óssea e ocorrência de fraturas em mulheres com ou sem amenorreia na síndrome de Cushing, sugerindo que o excesso de cortisol, independentemente da função gonadal, tem efeito negativo sobre o esqueleto (Tauchmanovà *et al.*, 2006).

Com relação ao eixo GH / IGF-I, o excesso de cortisol tem efeito inibitório que se traduz em importante indicador clínico de DC em crianças obesas com déficit de crescimento, sendo que este quadro de hipossomatotrofismo pode ser potencializado pelo hipogonadismo secundário. Em adultos, o prejuízo de secreção de GH / IGF-I pode ser um mecanismo de redução de formação óssea como sugerido em indivíduos asmáticos em uso de GCs (Canalis *et al.*, 2004; Malerba *et al.*, 2005).

Paralelamente, o hipercortisolismo poder levar a alterações no metabolismo da vitamina D, na absorção intestinal de cálcio e na excreção urinária do cálcio, resultando em um estado de hiperparatireoidismo secundário (Lukert e Raisz, 1990; Ziegler e Kasperk, 1998). O tratamento crônico com GCs pode alterar a dinâmica secretória de paratormônio (PTH), ocasionando uma menor secreção no tônus basal, mas com padrão de hiper-resposta frente a estímulos (Lanna *et al.*, 2002; Bonadonna *et al.*, 2005). Em um estudo clínico, a indução de hipocalcemia por meio de infusão endovenosa de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) demonstrou que indivíduos com síndrome de Cushing possuem resposta de PTH, após hipocalcemia, mais acentuada em relação aos controles. Em contrapartida, o mesmo estudo mostrou que a supressão do PTH com administração de cálcio oral e endovenosa é semelhante em ambos os grupos (Lanna *et* al., 2002). Adicionalmente, a perda óssea é predominantemente trabecular no hipercortisolismo, com perda de função osteoblástica,

enquanto no hiperparatireoidismo a perda óssea é predominantemente cortical, sem alteração concomitante da função osteoblástica (Lukert e Raisz, 1990; Gennari, 1994; Lanna *et al.*, 2002; Canalis *et al.*, 2004). Em conjunto, os dados acima sugerem que o hiperparatireoidismo secundário não parece ser o mecanismo preponderante da doença óssea no hipercortisolismo.

Outro aspecto a ser considerado sobre o fenótipo ósseo na OIG é que os GCs prejudicam não só a massa óssea, mas também a qualidade óssea. Uma forte evidência clínica a favor desta colocação é que indivíduos com hipercortisolismo apresentam risco de fratura maior quando comparados a indivíduos com massa óssea semelhante sem histórico de uso de GC. Neste sentido, nos últimos anos grande esforço tem sido dirigido ao desenvolvimento de novas ferramentas para aprimorar o diagnóstico de osteoporose. Recentemente, a incorporação do *Trabecular Bone Score* (TBS) ao exame de densitometria óssea (DXA) possibilitou uma melhor estratificação de risco de fatura, independente da densidade mineral óssea (DMO) (Pothuaud *et al.*, 2008; Hans *et al.*, 2011; Roux *et al.*, 2013; Winzenrieth *et al.*, 2013). O TBS é um preditor independente do risco de fratura, complementar à DMO e aos fatores de risco clínicos. Adicionalmente, O TBS é melhor preditor de fraturas nas causas secundárias de osteoporose. Além disto, a avaliação por TBS não é influenciada por alterações degenerativas que ocorrem na osteoartrose (Dufour *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2014; Di Gregorio *et al.*, 2015; Harvey *et al.*, 2015; Mccloskey *et al.*, 2015). O TBS é mais baixo em indivíduos com fraturas, prediz risco de fratura independentemente da DMO, sendo que a combinação de TBS e DMO é superior a qualquer um dos métodos atuais quando utilizados isoladamente (Silva *et al.*, 2014; Harvey *et al.*, 2015; Mccloskey *et al.*, 2015). Desta forma, o TBS tem se mostrado muito útil na avaliação de risco de fratura por causas secundárias de osteoporose, como *diabetes mellitus* tipo 2 (DM 2) e osteoporose induzida por glicocorticoides (OIG) (Dhaliwal *et al.*, 2014; Ulivieri *et al.*, 2014; Paggiosi *et al.*, 2015). Em um estudo recente, observou-se que a avaliação por TBS foi capaz de detectar alterações

ósseas no *diabetes mellitus*, uma situação em que o exame de medida de DMO tem reconhecida limitação para capturar alterações. Nesta mesma linha, o TBS foi capaz de estratificar diferenças entre os indivíduos diabéticos, sendo mais alto nas mulheres com bom controle glicêmico, demonstrando um menor risco de fraturas quando a hemoglobina glicosilada (HbA1c) era menor ou igual a 7,5% (Dhaliwal *et* al., 2014). Além disso, o TBS foi capaz de estratificar a gravidade da doença óssea na OIG ao mostrar que os indivíduos em uso de GC apresentam baixo TBS, porém o valor é ainda menor entre aqueles que já sofreram fratura. (Paggiosi *et al.*, 2015). Por fim, o TBS pode ser uma ferramenta útil de monitoramento clínico de terapia, sendo capaz de apontar os efeitos ósseos decorrentes do tratamento para osteoporose, tanto com drogas antirreabsortivas como anabólicas (Di Gregorio et al., 2015).

De maneira mais detalhada, os GCs podem alterar a qualidade e a densidade mineral óssea, visto que o excesso de GC reduz a síntese de matriz óssea e aumenta a sua degradação. O hipercortisolismo também inibe a diferenciação das células da linhagem osteoblástica, diminuindo a osteoblastogênese e induzindo a apoptose de osteócitos e osteoblastos (Pereira *et al.*, 2001). Os GCs também afetam a osteoclastogênese aumentando a expressão do ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa-B (RANKL) e diminuindo a produção da osteoprotegerina (OPG). Estas duas ações culminam com aumento da osteoclastogêne e da atividade de osteoclastos maduros (Figura 2) (Canalis e Giustina, 2001; Francucci *et al.*, 2002). Além disso, os GCs aumentam a expressão do CSF-1 (*colony-stimulatingfactor 1*), que tem efeito sinérgico com o RANKL na atividade osteoclastogênica. Contudo, a análise dos marcadores de reabsorção óssea nos pacientes com DC é contraditória, visto que os valores séricos de RANKL estão mais relacionados com a síntese deste marcador pelo endotélio vascular do que com sua síntese no microambiente ósseo (Canalis e Giustina, 2001; Francucci *et al.*, 2002).

Ainda, há evidências de que o hipercortisolismo pode influenciar a formação óssea, interferindo na sinalização da via *Wnt* (*wingless-type*), através de alterações dos níveis de esclerostina e do *Dickkopf*-1 (DKK-1), antagonistas endógenos desta via (Gifre *et al.*, 2013). Um estudo prospectivo, em indivíduos em uso de GCs, demonstrou um aumento da esclerostina ao longo de doze meses, de maneira dependente da dose dos GCs, com correlação negativa com os níveis de FA óssea. Por outro lado, os níveis do DKK-1 sofreram queda dos níveis ao logo do tempo, sugerindo um mecanismo contrarregulador protetor dos efeitos dos GCs sobre a inibição da formação óssea (Gifre *et al.*, 2013). Os osteoblastos também expressam a 11β-hidroxiesteroidedesidrogenase tipo 1 (11β-HSD1), uma isoenzima que converte primariamente a cortisona inativa em cortisol ativo. Tal conversão se torna maior à medida que aumenta a exposição dos osteoblastos aos GC (Cooper *et al.*, 2002). Como a expressão da 11β-HSD1 é variável entre os indivíduos, a maior ou menor amplificação dos efeitos osteocatabólicos dos GCs promovidos por este mecanismo, dependerá da atividade desta enzima, explicando a diferença de sensibilidade entre os indivíduos, em relação à gravidade da doença óssea, com a dose de GCs (Cooper *et al.*, 2002; Canalis *et al.*, 2004). Nesta mesma linha, a 11β-HSD1 também apresenta expressão diversa nos diferentes tipos de tecido adiposo, isto é, subcutâneo e visceral. Desta forma, é possível que a distribuição de gordura na DC tenha impacto sobre o esqueleto. Porém ainda não está claro o papel da adiposidade visceral e da adiposidade da medula óssea (AMO) sobre a massa óssea na DC.

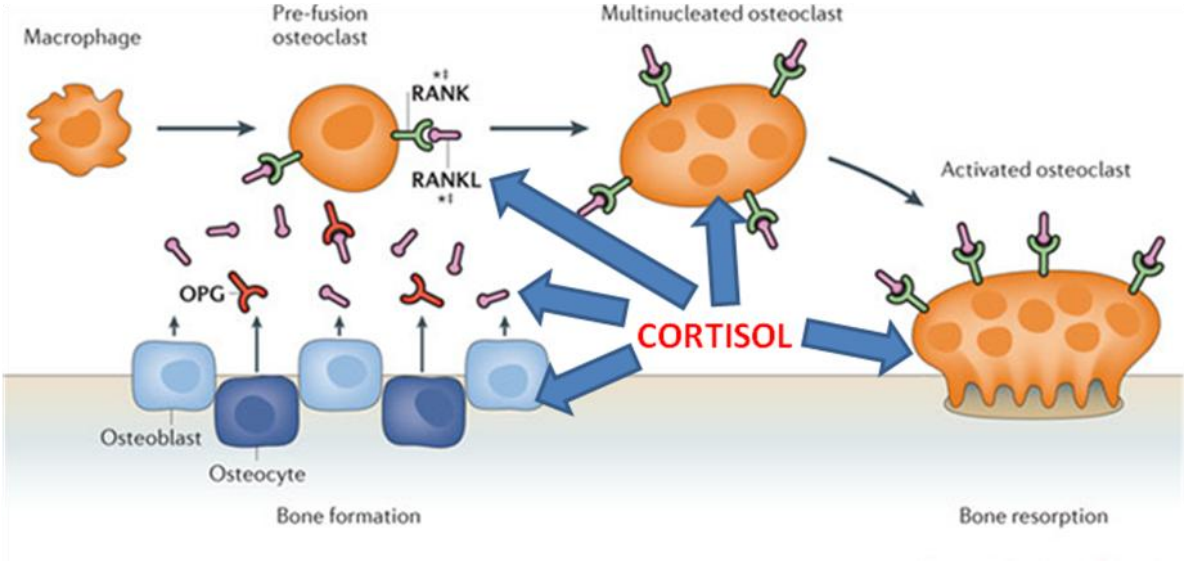

Figura 2 - Mecanismos diretos de ação do cortisol pela via RANK/RANKL/OPG (Richa*rds et* al., 2012) (adaptado).

Em geral, quando se avalia o efeito do peso, observa-se uma correlação positiva entre DMO de coluna lombar e índice de massa corporal (IMC). A obesidade foi por muito tempo associada a maior risco cardiovascular e, em contrapartida, como fator protetor de osteoporose devido ao papel positivo que o peso corporal tem sobre a massa óssea (Reid *et* al., 1994). Mais recentemente, este conceito foi reconsiderado após novos estudos terem verificado que a incidência de fratura é igual ou maior em obesos (Premaor *et al.*, 2014). Adicionalmente, a obesidade e alteração do metabolismo dos carboidratos causados pelo hipercortisolismo podem ter um papel negativo importante no esqueleto. Mais do que isso, a coexistência do hipercortisolismo com a obesidade e com a alteração do metabolismo dos carboidratos traduz-se em um cenário ímpar. O possível efeito positivo da obesidade sobre o esqueleto passou a ser questionado após estudos mais recentes terem mostrado que o risco de fratura é similar ou aumentado em indivíduos obesos. Desta forma, passou a existir grande interesse no estudo do papel da distribuição de gordura corporal e da resistência à insulina sobre o tecido ósseo (Fulzele *et al.*, 2010; Premaor *et al.*, 2014).

Em relação à distribuição de adiposidade corporal e redistribuição de lipídeos na obesidade como fator influenciador funcional e estrutural em outros tecidos (p.ex. pâncreas, músculo e fígado) o tecido ósseo ocupa posição especial por abrigar o seu próprio tecido adiposo. A perda de massa óssea no hipercortisolismo está associada a uma maior adipogênese da medula óssea em detrimento da osteoblastogênese. Osteoblasto e adipócito da medula óssea compartilham um precursor comum, a célula-tronco mesenquimal e, possivelmente, o desvio de diferenciação em uma linhagem ocorre em detrimento da outra. Não por acaso, foi sugerido que a osteoporose pode ser considerada a obesidade do osso (Rosen e Bouxsein, 2006). Os GCs atuam na via de regulação da família de fatores nucleares C/EBP (CCAAT/*enhancer binding protein*) e na via do PPARγ2 (*peroxisome proliferator-activated receptor γ 2*), estimulando a adipogênese na medula óssea (Pereira *et al.*, 2004; Lazarenko *et al.*, 2007). Além disso, o cortisol pode induzir superexpressão do receptor *Notch*1 através de aumento do RNA mensageiro (mRNA) desta proteína, causando um prejuízo na maturação osteoblástica e também favorecendo a adipogênese (Pereira *et al.*, 2004) (Figura 3).

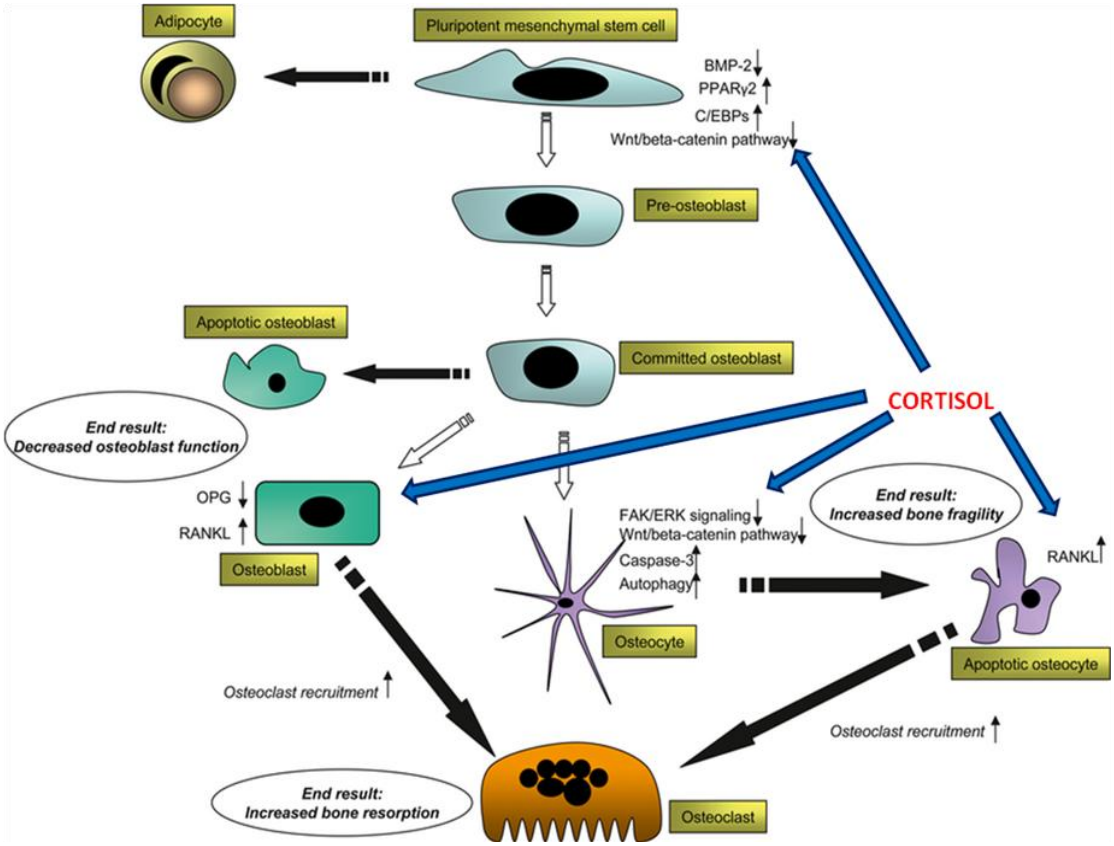

Figura 3 - Mecanismos de ação do cortisol nas células-tronco mesenquimais da medula óssea e no microambiente das células (Toth e Grossman, 2013) (adaptado).

Em relação à obesidade, não só a quantidade, como também a distribuição do tecido adiposo é determinante de saúde ou doença. Em relação ao esqueleto ainda não está claro o papel que a distribuição de gordura tem sobre a massa óssea e suscetibilidade à fratura. Neste particular, o tecido ósseo apresenta uma relação especial, por abrigar o seu próprio tecido de armazenamento de lipídios, o tecido adiposo da medula óssea. A AMO possui uma complexa relação com o metabolismo energético, apresentando comportamento diferente de outros sítios de tecido adiposo. Por exemplo, em situações de restrição calórica ocorre aumento de tecido adiposo de medula óssea, enquanto, como esperado, os outros sítios definham (Bredella *et al.*, 2009; Misra e Klibanski, 2013). A produção de adipocinas inflamatórias, além de causarem alteração no metabolismo dos carboidratos e de aumentar risco

cardiovascular, levam a um aumento da atividade osteoclástica e uma diminuição da atividade osteoblástica.

A leptina pode modular a adipogênese e osteoblastogênese. Estudos *in vitro*, utilizando uma linhagem de células estromais imortalizadas de medula óssea de humanos (hMS2-12), demonstraram que a leptina foi capaz de bloquear a adipogênese e estimular a osteoblastogênese (Thomas *et al.*, 1999). Além disso, quando injetada via intraperitoneal, a leptina inibe a osteoclastogênese em modelos animais de perda óssea (Martin *et* al., 2005). Entretanto, quando a leptina é administrada por via intraventricular, tanto em animais controles como em animais *ob/ob*, se observa perda de massa óssea. Neste caso, diversas evidências indicam que há estímulo do sistema simpático, o qual levaria a perda de massa óssea. Adicionalmente, a perda de massa óssea induzida por infusão central de leptina pode ser inibida por propanolol, um antagonista β-adrenérgico (Ducy *et al.*, 2000; Takeda *et al.*, 2002). De maneira contrária, quando a leptina é injetada por via subcutânea em animais *ob/ob*, observa-se aumento do conteúdo mineral ósseo e redução do volume de adiposidade óssea dos membros posteriores (Hamrick *et al.*, 2005). Outros estudos indicam que a leptina é um fator osteogênico apenas em animais deficientes, não apresentando efeito adicional quando injetada em animais com níveis circulantes normais de leptina (Khosla, 2002; Hamrick *et al.*, 2004). Recentemente, foi descrito uma correlação positiva dos níveis de leptina com alterações ósseas estruturais (porosidade cortical do rádio, diâmetro cortical radial, espessura trabecular tibial e estresse trabecular tibial de von Mises) em crianças obesas (Dimitri *et al.*, 2015). Os dados da literatura com relação à leptina permanecem conflitantes, em parte pelo fenótipo esquelético discrepante dos animais *ob/ob* (Ducy et al., 2000; Hamrick et al., 2004). Além disso, a deficiência de leptina nos animais *ob/ob* parece ter efeitos variáveis sobre o esqueleto, dependendo do sítio ósseo considerado, como, por exemplo,

vértebras ou ossos longos dos membros posteriores (Ducy *et al.*, 2000; Hamrick *et al.*, 2004). Assim, a relação entre leptina e tecido ósseo parece ser complexa e ainda pouco entendida.

O Pref-1 (*preadipocyte factor* 1), um membro da família de fatores de crescimento epidérmico, é outra adipocina que pode ter um papel importante na interação entre o tecido adiposo e o tecido ósseo. Inicialmente, foi descrita como uma proteína de superfície de membrana, passível de clivagem, altamente expressa em pré-adipócitos, sofrendo *down-regulation* durante o processo de adipogênese (Smas e Sul, 1993; Smas *et al.*, 1997). Em camundongos com deleção do Pref-1, observou-se aumento do tecido adiposo periférico e retardo no desenvolvimento esquelético (Moon *et al.*, 2002). Além disso, o padrão de herança do Pref-1 ocorre por *imprinting*, o que explica diferentes fenótipos em animais heterozigotos (Moon *et al.*, 2002). Estudos *in vitro* demonstraram que a superexpressão do Pref-1 bloqueia tanto a adipogênese como a osteoblastogênese, consistente com a hipótese que o Pref-1 mantém a célula-tronco mesenquimal em um estado indiferenciado (Abdallah *et al.*, 2004). Diante do exposto, o Pref-1 poderia tanto atuar inibindo a adipogênese como a osteoblastogênese.

Em situações de restrição calórica, por outro lado, onde há redução das adipocinas inflamatórias, ocorre um aumento de adiponectina, impactando positivamente sobre a sensibilidade insulínica e metabolismo energético (Cawthorn *et al.*, 2014). Além disso, a adiponectina possui influência complexa sobre o tecido ósseo, com dados conflitantes na literatura quanto ao papel da adiponectina sobre o tecido ósseo. Estudos *in vitro* e *in vivo* mostram que a adiponectina atua diretamente nos osteoblastos, inibindo a formação óssea por meio de indução apoptose destas células, mas, por outro lado, estimula indiretamente a osteoblastogênese por inibir a atividade do sistema nervoso simpático (Kajimura *et al.*, 2013). Adicionalmente, a adiponectina inibe indiretamente a osteoclastogênese através das células estromais (Williams *et al.*, 2009). Estudos clínicos também apresentam resultados conflitantes

quanto ao papel da adiponectina sobre o esqueleto (Richa*rds et* al., 2007). Em um estudo de metanálise, uma relação inversa entre adiponectina e DMO se manteve em coluna lombar, quadril total e corpo total mesmo quando se ajustou a análise pelos parâmetros de gordura corporal (Biver *et* al., 2011). Em suporte a esses dados, observou-se relação inversa entre adiponectina e DMO de coluna lombar e colo femoral, mas após análise multivariada, a adiponectina foi fator preditivo independente para menor DMO apenas em colo femoral (Mpalaris *et* al., 2016). Por outro lado, estudo realizado por Napoli e colaboradores, não demonstra relação entre adiponectina e DMO após ajuste para o IMC (Napoli *et* al., 2010).

Concomitantemente, o tecido ósseo pode influenciar o tecido adiposo, configurando uma relação mútua entre estes tecidos de origem mesenquimal. Os osteoblastos são capazes de liberar fatores que possivelmente atuam melhorando sensibilidade insulínica, função e sobrevida das células β-pancreáticas e secreção de adiponectina por adipócitos (Riddle e Clemens, 2014). A osteocalcina, um peptídeo sintetizado pelo osteoblasto, é um potencial elo de ligação entre o tecido ósseo e os tecidos insulinodependentes clássicos (Fulzele *et al.*, 2010; Bredella *et al.*, 2014). Fulzele *et al.* demonstraram *in vitro* que osteoblastos com deleção do receptor de insulina apresentam redução de expressão de fosfatase alcalina e maior taxa de apoptose. Adicionalmente, *in vivo,* os camundongos com esta deleção apresentavam parâmetros de morfometria como espessura trabecular, número de trabéculas e relação de volume ósseo sobre volume trabecular reduzidos, além de menor número de osteoblastos. Além disso, *Fuzele et al.* observaram que estes camundongos apresentavam níveis séricos reduzidos de osteocalcina, menor tolerância ao teste de glicose endovenosa e maior resistência insulínica. Curiosamente, estes animais, quando tratados com osteocalcina,apresentaram melhora na tolerância à glicose em teste endovenoso e maior sensibilidade insulínica. Um estudo transversal realizado por nosso grupo (Miranda *et* al., 2011), demonstrou que indivíduos com DC apresentavam menor DMO em coluna lombar e níveis supressos de

osteocalcina em relação ao controle, sendo que a recuperação da DMO foi observada, em média, após dez anos da remissão da DC. Estes dados dão suporte a resultados anteriores que demonstraram menor DMO em indivíduos com DC seguido de recuperação de massa óssea após remissão clínica obtida por tratamento cirúrgico (Manning *et al.*, 1992; Hermus *et al.*, 1995; Di Somma *et al.*, 2003). Por fim, esta relação entre massa óssea e tecido adiposo torna-se mais complexa, visto que estes interagem entre si e com o metabolismo glicêmico, de maneira negativa. Como contraponto, este ambiente favorece o aparecimento do *diabetes mellitus*, que também é considerado um fator predisponente à fratura (De Paula *et* al., 2010).

Assim, a tríade formada por hipercortisolismo, obesidade e hiperglicemia é um conjunto que apresenta uma complexa interação com o tecido ósseo. O papel que cada um exerce para o surgimento de osteoporose ainda está por ser melhor esclarecido e desperta grande interesse.

Atualmente, não existem dados na literatura sobre a associação entre alteração do metabolismo dos carboidratos, resistência insulínica, distribuição de tecido adiposo e suas relações com alterações de remodelação óssea na DC.

O presente trabalho foi desenvolvido para avaliar diversos aspectos da interação entre metabolismo ósseo e energético na DC e avançar no conhecimento de alguns aspectos da etiopatogenia do surgimento da perda de massa óssea, do aumento de adipogênese e da alteração do metabolismo de carboidratos caracterizado por resistência insulínica nesta condição clínica.

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar em dois estudos distintos, basal e prospectivo, diversos aspectos da interação entre o metabolismo mineral e metabolismo energético na DC e o seu possível impacto sobre a massa óssea. Em particular, houve interesse em se investigar a associação entre a massa óssea e os diversos tipos de tecido adiposo como o subcutâneo (SAT) e visceral (VAT), teor de lipídios intra-hepáticos (IHL) e AMO.

Objetivos específicos

Avaliar, no estudo basal e prospectivo, a inter-relação de parâmetros antropométricos, metabolismo energético, FA, IGF-I, osteocalcina, leptina, adiponectina e Pref-1 com DMO, TBS, composição corporal por DXA, AMO, SAT e VAT na DC.

Avaliar, no estudo basal e prospectivo, a inter-relação de parâmetros de composição corporal por DXA, AMO, SAT e VAT com DMO e TBS na DC.

Avaliar, no estudo prospectivo, a inter-relação da osteocalcina com a tolerância à glicose e resistência insulínica na DC.

Avaliar, no estudo prospectivo, a inter-relação da deoxipiridinolina com DMO, TBS, parâmetros de composição corporal por DXA, AMO, SAT e VAT na DC.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais e Métodos

Desenho do estudo

O presente estudo, conduzido de maneira prospectiva, foi realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRP-USP). A inclusão de indivíduos com doença de Cushing foi feita entre 01 de julho de 2011 e 31 de julho de 2015. Esses indivíduos foram selecionados no Ambulatório de Neuroendocrinologia do HC-FMRP-USP e/ou nas enfermarias sob responsabilidade da Divisão de Endocrinologia e Metabologia do HC-FMRP-USP.

O projeto de pesquisa foi submetido à apreciação prévia do Comitê de Ética em Pesquisa da instituição, com proposta de desenvolvimento em estrita obediência aos preceitos para pesquisa em seres humanos (Brasil, 1996), tendo sido aprovado sem restrições (CAAE 03209812.6.0000.5440). O consentimento de todos os participantes foi obtido após a devida informação sobre os objetivos do estudo e os métodos que seriam utilizados, mediante o emprego de termos próprios, sendo que, somente após a concordância em participar do estudo e a assinatura do correspondente termo, foi iniciada a participação de cada um no estudo.

Foram formados três grupos experimentais, sendo um grupo controle de indivíduos não obesos (C), um grupo controle de indivíduos obesos (O) e um grupo de indivíduos com doença de Cushing (DC). Os voluntários foram informados sobre os objetivos, possíveis desconforto e riscos envolvidos em cada um dos procedimentos. Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre esclarecido antes da inclusão no protocolo experimental (Anexo 8).

Adicionalmente, o grupo DC, submetido à intervenção cirúrgica para o tratamento da DC (tumorectomia via transesfenoidal ou adrenalectomia bilateral), foi avaliado no período pré-operatório (Pré-op), no 6º mês pós-operatório (6º mês PO) e no 12º mês pós-operatório (12º mês PO). Durante o seguimento destes indivíduos, realizamos o escore de atividade clínica (EAC) para DC (Anexo 7) (Sonino *et al.*, 2000; Elias *et al.*, 2014).

Critérios de inclusão

Indivíduos com DC, do sexo feminino, com idade superior a 18 anos e inferior a 65 anos, submetidas a tratamento cirúrgico.

Grupo controle não obeso e o grupo controle obeso incluíram indivíduos saudáveis, do sexo feminino, com idade superior a 18 anos e inferior a 65 anos. No grupo controle não obeso foram incluídos indivíduos com IMC < 27,0kg/m² e no grupo controle obeso foram incluídos indivíduos com IMC ≥ 27,0Kg/m².

Critérios de exclusão

Foram excluídos indivíduos com patologias concomitantes que pudessem alterar o metabolismo do cálcio (desnutrição, neoplasias, doença hepática, renal, tireoidiana ou paratireoidiana) ou uso de medicações que interferissem no metabolismo mineral (cálcio, vitamina D, calcitonina, bisfosfonatos, anticonvulsivantes e terapia de reposição hormonal). Além disto, foram excluídos indivíduos com história de tabagismo e alcoolismo nos últimos dez anos.

Casuística

Grupo doença de Cushing (DC)

Neste grupo foram incluídos dezesseis indivíduos do sexo feminino (n=16), recrutadas de maneira consecutiva, com idade superior a 18 anos e inferior a 65 anos, com diagnóstico de DC estabelecido pelos critérios adotados pelo serviço de Neuroendocrinologia do HC-FMRP-USP (Castro e Moreira, 2007; Nieman *et al.*, 2008).

O tempo médio de DC ao diagnóstico foi 4,3 ± 2,4 anos. As pacientes apresentavam medidas elevadas de cortisol salivar às 09h (2340 ± 1146ng/dl) e às 23h (1621 ± 793ng/dl) e não apresentavam supressão após 1mg de dexametasona *overnight* (1533 ± 1848ng/dl). Além disso, apresentavam valores elevados de cortisol livre urinário (UFC) (152 ± 120µg/24h).

O ACTH basal médio foi de 68,8 ± 42,4pg/ml e o tamanho tumoral foi de 1,0 ± 0,9cm, sendo que onze indivíduos apresentavam microadenoma (0,4 ± 0,2cm), e cinco apresentavam macroadenoma (2,3 ± 0,7cm). Os níveis médios de andrógenos foram: sulfato de deidroepiandrosterona (DHEAS) 172,2 ± 116,6µg/dl, androstenediona 127,3 ± 75,5ng/dl e testosterona total 76,2 ± 31,8ng/dl.

Das dezesseis pacientes avaliadas na condição basal, catorze tratavam-se de primodiagnóstico e foram submetidas à primeira cirurgia transesfenoidal, uma apresentava diagnóstico prévio de DC com cirurgia transesfenoidal realizada há cinco anos com recidiva

documentada há cerca de um ano, tendo sido submetida à segunda abordagem transesfenoidal e a outra tratava-se de DC diagnosticada há seis anos, com cirurgia transesfenoidal prévia sem sucesso, seguida de tratamento com cetoconazol e radioterapia sem controle adequado da doença, sendo submetida a adrenalectomia bilateral. No seguimento pós-operatório, oito pacientes evoluíram com remissão clínica e laboratorial, cinco apresentaram apenas remissão clínica e três mantiveram doença em atividade. A paciente submetida a adrenalectomia bilateral iniciou tratamento com prednisona e fludrocortisona. O critério adotado pelo serviço para remissão laboratorial é dosagem de cortisol plasmático menor que 1,8µg/dl nos primeiros 15 dias após a abordagem cirúrgica.

Na avaliação prospectiva, foram acompanhadas onze pacientes, das quais sete mantiveram-se em remissão da doença durante todo o período do estudo, três apresentaram alteração laboratorial sugerindo recidiva e uma paciente não apresentou critérios de remissão clínica ou laboratorial em nenhum momento. Das sete pacientes que se mantiveram em remissão, quatro mantinham uso de prednisona no 12º mês PO. As três pacientes que apresentaram recidiva foram documentadas com elevação do cortisol salivar às 23h no 12º mês PO. A paciente que não apresentou critérios de remissão iniciou tratamento com cetoconazol no 6º mês PO.

Cabe salientar que uma das participantes tinha diagnóstico de *diabetes mellitus* tipo 1 (DM 1) há cerca de vinte anos, duas tinham relato de cirurgia bariátrica, uma apresentava doença renal policística com insuficiência renal crônica estádio IIIb com *clearance* de creatinina estimado pelo CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) de 35,1ml/min/1,73m² (Le*vey et* al., 2009), três tinham histórico de tabagismo (uma em uso atual de tabaco), uma referia histórico de etilismo e uma relatava fratura prévia de tíbia e oito faziam reposição oral com cálcio e vitamina D. Tais pacientes não foram excluídas do estudo devido ao número pequeno de indivíduos participantes. Adicionalmente, não observamos diferenças significativas dos parâmetros avaliados destas pacientes quando comparadas ao grupo DC como um todo.

Grupos controle não obeso (C) e controle obeso (O)

Os voluntários destes grupos foram selecionados por aviso no ambiente da FMRP-USP e externo. O grupo C foi formado 27 indivíduos saudáveis (n=27), do sexo feminino, com idade entre 18 e 65 anos, pareado com o grupo DC por idade e altura. O grupo O foi formado

16 por indivíduos (n=16), do sexo feminino, com idade entre 18 e 65 anos, pareado com o grupo DC por idade e altura.

Medidas de bioquímica geral e osteometabólica

A coleta de sangue foi realizada entre 08 e 09 horas da manhã, após jejum de 12 horas. Foram colhidos 30 ml de sangue para determinação de cálcio total, albumina, fósforo inorgânico, FA, creatinina, glicemia, insulina, HbA1c, osteocalcina, PTH, 25-hidroxivitamina D (25(OH)D), IGF-I, adiponectina, leptina e Pref-1.

Além disso, no grupo DC, foi realizada coleta de amostra de sangue, para dosagem de cálcio iônico e magnésio, e de urina, para dosagem de deoxipiridinolina e creatinina, além de coleta prévia de urina de 24h para dosagem de calciúria.

Finalmente, o grupo DC foi submetido a teste oral de tolerância à glicose (GTT), com coleta seriada de amostra de sangue aos 30, 60, 90 e 120min após ingestão de 75g de glicose para avaliação de curva glicêmica, resposta insulínica e comportamento de osteocalcina sérica.

Amostras de soro foram armazenadas a -80° C para posterior dosagem de insulina, osteocalcina, 25(OH)D, IGF-I, adiponectina, leptina e Pref-1, além de armazenamento de amostra de urina também a -80° C para posterior dosagem de deoxipiridinolina. As demais dosagens foram realizadas no mesmo dia da coleta.

As dosagens bioquímicas de cálcio total (método arcenazo III), albumina (método colorimétrico), fósforo inorgânico (método ultravioleta), cálcio iônico (método eletrodo seletivo), FA (método enzimático), creatinina (reação de Jaffé) e glicemia (método enzimático) foram realizadas em aparelho analisador bioquímico automático (CT 600i, WienerLabGroup, Rosário, Argentina) no Laboratório Central do HC-FMRP-USP.

A dosagem de magnésio foi obtida através de espectrofotometria por absorção atômica, em analisador bioquímico semi-automático (SpectrAA 55B, Agilent Technologies, Mulgrave, Australia), no Laboratório de Metais do HC-FMRP-USP.

As dosagens de creatinina urinária e calciúria de 24h foram obtidas utilizando-se de método cinético e colorimétrico, respectivamente, em aparelho analisador bioquímico automático (CB 350i, WienerLabGroup, Rosário, Argentina), no Laboratório de Fluidos Orgânicos do HC-FMRP-USP.

As dosagens de 25(OH)D foram realizadas por técnica de quimioluminescência, em analisador automático (Diasorin, Saluggia, VC, Itália), o PTH intacto foi determinado por método quimioluminescente, em analisador automático (Immulite I, Siemens, Los Angeles, CA, USA) e o IGF-I sérico foi dosado por técnica de quimioluminescência, em analisador automático (Immulite 2000, Siemens, Los Angeles, CA, USA), no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do HC-FMRP-USP.

A dosagem da curva glicêmica também foi realizada no mesmo dia da coleta, com kit Glicose HK Liquiform (Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil) em aparelho analisador bioquímico automático (Cobas Mira S, Roche, Indianopolis, IN, USA), e da HbA1c por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) de troca iônica em aparelho analisador bioquímico automático (D-10, Bio-Rad, Hercules, CA, USA), no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do HC-FMRP-USP.

A curva de insulina foi dosada por método imunorradiométrico pelo kit Beckman Coulter IM3210 (Immunotech, Prague, Czech Republic), no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do HC-FMRP-USP. O coeficiente de variação (CV) intraensaio variou de 1,7 a 5,9%, com média de 3,1%, e o CV interensaio foi de 8,4%.

A osteocalcina foi determinada por ensaio imunoenzimático pelo kit hOST-EASIA (Diasource, Louvainlaneuve, Bélgica), no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do HC-FMRP-USP. O CV intraensaio variou de 0,8 a 8,8%, com média de 3,9%, e o CV interensaio foi de 9,8%.

As dosagens de deoxipiridinolina foram obtidas num único ensaio por método imunoenzimático pelo kit MicroVue (Quidel, San Diego, CA, USA), no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do HC-FMRP-USP. O CV intraensaio foi de 1,6%.

O Pref-1 foi determinado por ensaio imunoenzimático pelo kit DuoSetHuman Pref-1 (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do HC-FMRP-USP. O CV intraensaio variou de 3,6 a 9,3%, com média de 6,2%, e o CV interensaio foi de 9,3%.

A adiponectina foi determinada por ensaio imunoenzimático (Millipore, Billerica, MA, USA), no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do HC-FMRP-USP. O CV intraensaio variou de 4,8 a 9,0%, com média de 6,9%, e o CV interensaio foi de 26,4%.

A leptina foi dosada por método imunoenzimático (TECO, Sissach, Switzerland), no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do HC-FMRP-USP. O CV intraensaio variou de 1,6 a 3,7%, com média de 2,5%, e o CV interensaio foi de 5,4%.

O HOMA-IR (*Homeostatic Model Assessment – Insulin Resistance*) foi calculado para todos os indivíduos, utilizando-se as dosagens de glicemia (mg/dL) e insulinemia (µUI/mL), por meio de fórmula matemática descrita previamente (HOMA-IR = insulinemia (µUI/mL) x glicemia (mg/dl) x fator de conversão (0,0555)/22,5) (Turner e Holman, 1976; Matthews *et al.*, 1985; Levy *et al.*, 1998).

Densitometria óssea

Todos os indivíduos foram submetidos ao exame de DXA com medida da DMO em coluna lombar, quadril total, colo do fêmur, antebraço distal e corpo total, com resultados expressos em g/cm² e Z-score, além da aquisição de imagem de coluna tóraco-lombar para realização de VFA, em aparelho Discovery Wi, QDR® series (Hologic, Waltham, MA, USA).

O CV foi de 0,87% para coluna lombar, 1,46% para quadril total, 1,84% para colo femoral, 1,99% para antebraço distal e 0,98% para corpo total (Gluer *et al.*, 1995). A análise das imagens obtidas para VFA foi realizada por radiologista com experiência em doenças músculo-esqueléticas (Genant *et al.*, 1993; Wu *et al.*, 2004).

Além disso, foi realizado a análise de coluna lombar para cálculo do TBS através do *software* TBS iNsight V3.0 (MedimapsGroup, Geneva, Switzerland).

Os exames obtidos pelo densitômetro foram realizados no Centro de Ciências da Imagem e Física Médica (CCIFM) do HC-FMRP-USP.

Ressonância Magnética (RM)

Os exames de RM, tanto de coluna lombar como de abdômen, foram realizados em aparelho de 1,5 Tesla (Achieva, Philips Medical System, Amsterdam, Holanda) no CCIFM do HC-FMRP-USP.

Protocolo de aquisição de imagens de coluna por espectroscopia (MRS)

Foram realizados 25 exames de RM de coluna lombar no grupo C, 14 exames no grupo O, e 15 exames no grupo DC. No estudo prospectivo, foram realizados 10 exames no período Pré-op, 08 exames no 6º mês PO e 06 exames no 12º mês PO.

Todos os exames foram feitos utilizando bobina *phased-array* para a região lombar. Imagens ponderadas em T2 adquiridas em orientação sagital foram utilizadas como

localizadoras para a MRS de prótons (Tempo de eco (TE): 120ms, gap: 4,4mm, *echo-train-lenght*: 19, Tempo de repetição (TR): 3900ms, espessura do corte: 4mm, *flipangle*: 45°).

Um voxel cúbico de 1,5 cm de lado foi posicionado sobre o corpo de terceira vértebra de coluna lombar (L3) e serviu como volume de interesse para aplicação da técnica PRESS (*point resolved spectroscopy*), com oito medidas, sem supressão do sinal da água, TR=2000ms e múltiplos valores de TE=40/60/80ms. A duração desta aquisição foi de 1 minuto. Os dados foram processados com o software LCModel (Provencher, 1993) com o qual foi calculada a fração de gordura, a partir da área sob a curva do sinal na região de 1,3 ppm e 4,7 ppm, relacionada com a concentração de gordura e água, respectivamente (Hatipoglu *et al.*, 2007). A duração da aquisição da MRS foi de aproximadamente 1 minuto. O ambiente visual do programa LC Model está representado na Figura 4.

O valor relatado no presente estudo foi a fração gordura/água+gordura ou simplesmente AMO, sendo a concentração de água (pico na região de 4,7 ppm) igualmente corrigida ante o efeito de relaxação transversal.

Protocolo de aquisição de imagens de RM de abdômen

Foram realizados 13 exames de RM de abdômen no grupo C, 09 exames no grupo O, e 12 exames no grupo DC. No estudo prospectivo, foram realizados 08 exames no período Pré-op, 08 exames no 6° mês PO e 07 exames no 12° mês PO.

Foram obtidas as seguintes sequências: sequência ponderada em T2, plano coronal, turbo-spin-eco com supressão da respiração (TR= 737ms, TE= 80ms, *flipangle*= 90°, *eco-train-length*= 121, espessura de corte= 6mm, *gap*= 8%, 30 cortes em 22s de supressão da respiração) utilizada como localizador; sequência ponderada em T1 no plano axial, duplo-eco, em-fase (TE= 4,6ms) e fora-de-fase (TE= 2,3ms), com supressão da respiração, *spoiledgradientecho* (TR= 111ms, *flipangle*= 80°, espessura de corte= 6mm, *gap*= 7%, 30 cortes para cada eco, em 29s de supressão da respiração), com aquisições no abdômen superior incluindo o fígado com centro na região umbilical.

A análise de SAT, VAT e IHL foi realizada no software Display (Macdonald, 1996). Para análise da SAT e VAT foi utilizado o corte axial ao nível da cicatriz umbilical obtido na sequência T1, com realização de segmentação manual da SAT e VAT, com obtenção da área em mm^2 (Figura 5). A área da gordura abdominal total foi considerada a soma das áreas da

SAT e VAT no mesmo corte. O cálculo da quantidade de gordura nestas áreas é feito pela obtenção do número e do tamanho dos voxels (mm) segmentados.

Para a análise de IHL foi selecionada a região central com melhor posicionamento do fígado, sendo delimitadas quatro regiões de interesse (ROI) no tamanho $10mm^2$, nos segmentos VI/VII, V/VIII, IV e II/III. Os quatro ROIs foram posicionados evitando grandes vasos intra-hepáticos (Figura 6). O cálculo de IHL foi obtido utilizando-se a média de quatro medidas em locais distintos e seguiu a fórmula descrita por Fishbein e colaboradores: Fração de gordura = $(IS_{em\text{-}fase} - IS_{fora\text{-}de\text{-}fase})/ 2IS_{em\text{-}fase}$, onde IS corresponde aos níveis médios de intensidade de sinal por pixel, sendo que valores acima de 9% foram considerados como infiltração gordurosa hepática (Fishb*ein et* al., 2005).

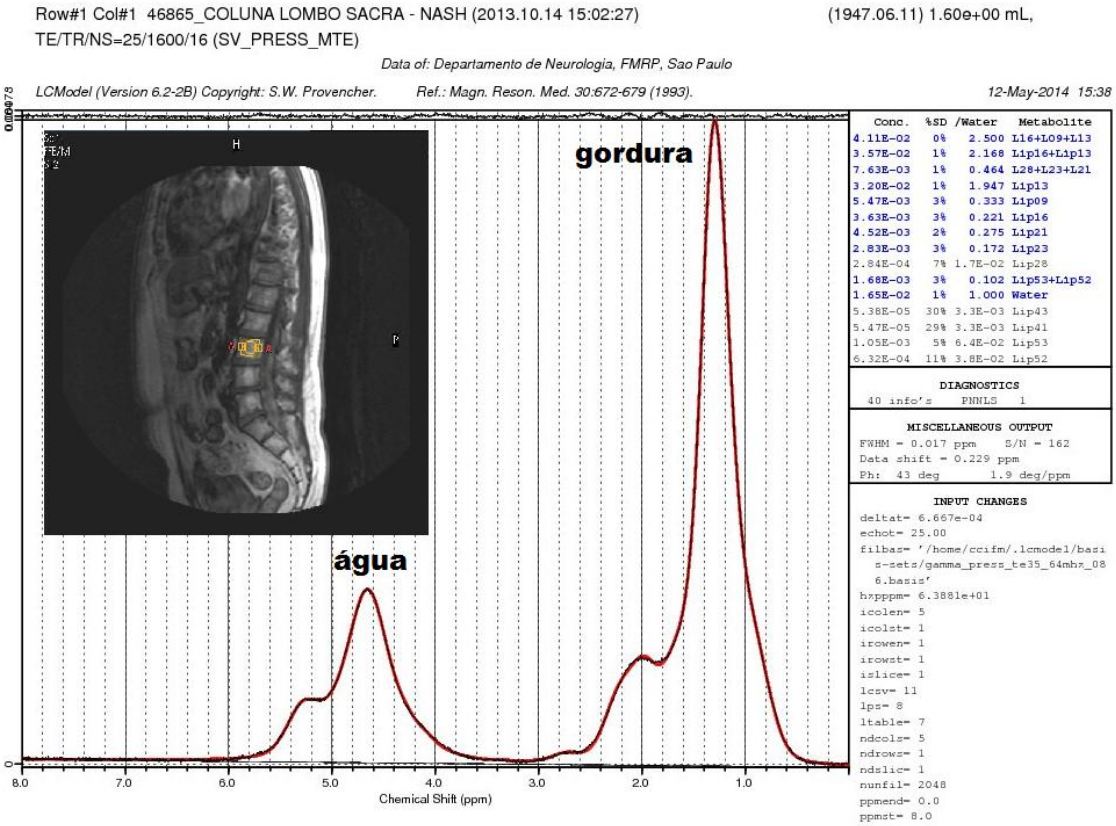

Figura 4 – Imagem de ressonância magnética de coluna lombar, no ambiente do *software LCModel*, ilustrando *voxel* no centro do corpo de terceira vértebra lombar (canto superior esquerdo) e respectivo gráfico de espectroscopia de prótons da medula óssea vertebral com dois picos, um correspondente à quantidade de água e o outro à quantidade de gordura (canto inferior direito).

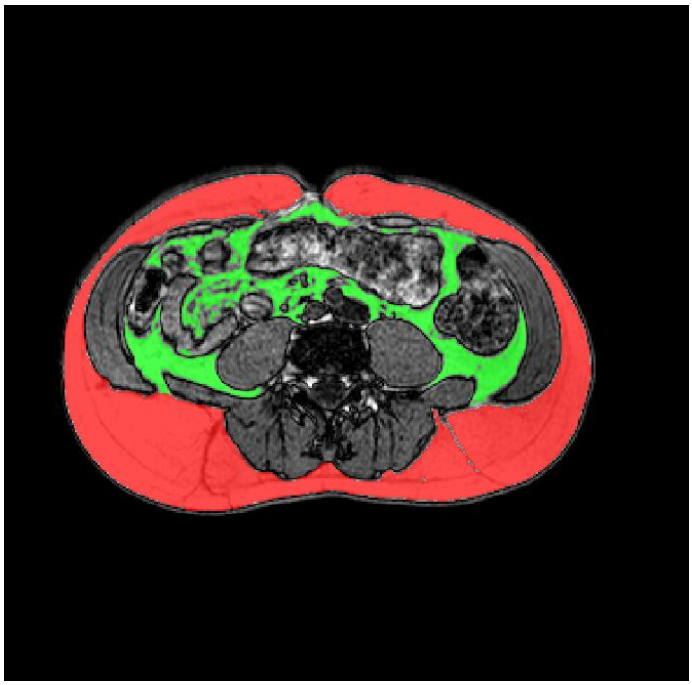

Figura 5 – Imagem de ressonância magnética de abdômen, em corte transversal, no ambiente do *software Display*. A área marcada em vermelho foi usada para cálculo do tecido adiposo subcutâneo, enquanto que a área marcada em verde foi usada para cálculo do tecido adiposo visceral.

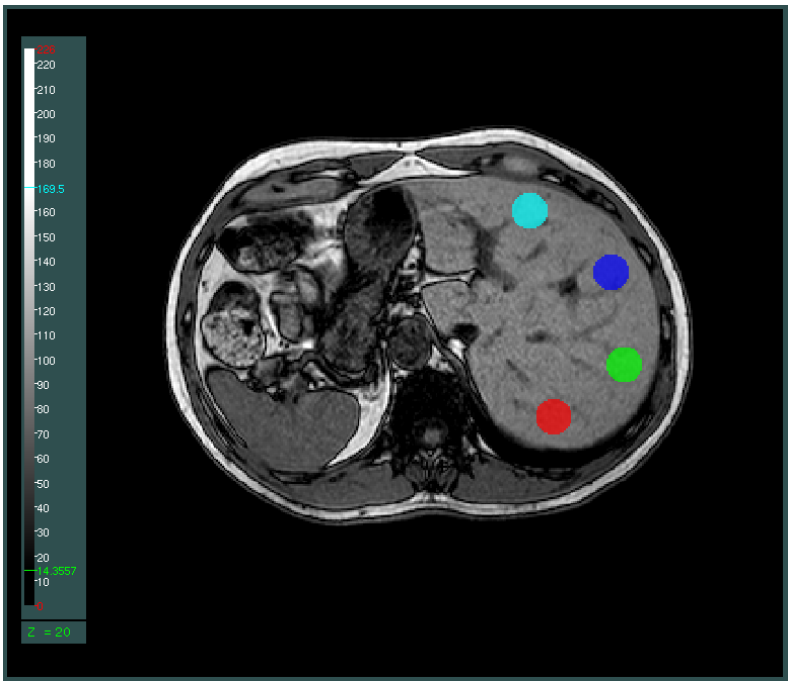

Figura 6 – Regiões de interesse selecionadas em imagem de ressonância magnética de abdômen, no ambiente do *software Display*, para cálculo de lipídeos intra-hepáticos.

Análise estatística

Inicialmente realizou-se uma análise exploratória dos dados, com o objetivo básico de sumarizar os valores, organizando e descrevendo os dados de duas maneiras: por meio de tabelas com medidas descritivas e de gráficos. As variáveis foram expressas em média, mediana, desvio padrão (DP) e gráficos em *boxplot* (Montgomery, 2000; Pagano e Gauvreau, 2004).

Estudo basal

Neste estudo utilizou-se a análise de variância (ANOVA) (Fisher, 1925). As comparações entre os grupos foram obtidas por meio de contrastes ortogonais ao invés de pós-teste (Montgomery, 2000; Pagano e Gauvreau, 2004). Os resultados foram obtidos com o auxilio do *software* SAS® (versão 9.2), usando a *PROC GLM* (Cary, 1999).

Estudo prospectivo

Neste estudo utilizou-se o modelo de regressão linear com efeitos mistos (efeitos aleatórios e fixos) (Montgomery, 2000; Pagano e Gauvreau, 2004; Schall, 1991). Neste estudo, os indivíduos foram acompanhados em três momentos: Pré-op, 6º mês PO e 12º mês PO. Os resultados foram obtidos com o auxilio do *software* SAS®, versão 9.2, usando a *PROC MIXED* (Cary, 1999).

Cushing basal

Neste estudo utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson(r) (Pearson, 1892; Montgomery, 2000; Pagano e Gauvreau, 2004). Os resultados foram obtidos com o auxílio do *software* SAS®, versão 9.2, através da PROC CORR (Cary, 1999) e os gráficos de dispersão foram obtidos com o auxílio do *software* R, versão 3.1 (RCoreTeam, 2014).

Análise dos dados agrupados

Neste estudo, os indivíduos foram acompanhados em três momentos: Pré-op, 6º mês PO e 12º mês PO. Utilizou-se o modelo de regressão linear com efeitos mistos (efeitos aleatórios e fixos) (Montgomery, 2000; Pagano e Gauvreau, 2004; Schall, 1991). Os resultados foram obtidos com o auxilio do *software* SAS®, versão 9.2, usando a *PROC MIXED* (Cary, 1999).

Em todas as análises considerou-se um nível de significância de 5% (α = 5%) e os ajustes foram obtidos no software SAS®, versão 9.2 (Cary, 1999). Os gráficos foram construídos no *software* R, versão 3.1 (RCoreTeam, 2014).

4. RESULTADOS

Estudo basal - Resultados

Características clínicas

Os dados referentes a sexo, idade, peso, altura e IMC dos indivíduos dos três grupos (C, O e DC) estão apresentadas nos Anexo 1, Anexo 2 e Anexo 3, respectivamente. A Tabela 1 exibe, exclusivamente, os valores de médias e DP da caracterização clínica dos grupos estudados.

Não houve diferença entre os três grupos quanto à idade (C= 35,4 ± 8,9, O= 40,0 ± 8,4, DC= 37,4 ± 10,7 anos). Conforme esperado, observamos maiores valores entre os grupos O e DC em relação ao grupo C quanto ao peso (C= 61,1 ± 7,8, O= 81,6 ± 15,6, DC= 88,1 ± 17,2Kg, $p< 0,05$), à circunferência abdominal (CA) (C= 78,8 ± 10,0, O= 99,5 ± 8,1, DC= 112,1 ± 12,5cm, $p< 0,05$) e ao IMC (C= 22,6 ± 2,6, O= 32,1 ± 4,7, DC= 33,5 ± 6,0Kg/m², $p< 0,05$). O grupo DC também apresentou maior valor de CA quando comparado ao grupo O. Em relação à estatura, o grupo O apresentou menor estatura quando comparado ao grupo C (C= 1,65 ± 0,08, O= 1,59 ± 0,07, DC= 1,62 ± 0,05m, $p<0,05$).

Tabela 1 - Média e desvio-padrão da caracterização antropométrica dos grupos controle, obeso e doença de Cushing

	C (n=27)	**O (n=16)**	**DC (n=16)**
Idade (anos)	35,4±8,9	40,0±8,4	37,4±10,7
Altura (m)	1,65±0,08	1,59±0,07#	1,62±0,05
Peso (kg)	61,1±7,8	81,6±15,6#	88,1±17,2*
Índice de massa corporal (kg/m^2)	22,6±2,6	32,1±4,7#	33,5±6,0*
Circunferência abdominal (cm)	78,8±10,0	99,5±8,1#	112,1±12,5*§

Nota. C = grupo controle; O = grupo obeso; DC = grupo doença de Cushing
* significa diferença entre o DC quando comparado ao grupo C, $p<0,05$
§ significa diferença entre o grupo DC quando comparado ao grupo O, $p<0,05$
# significa diferença entre o grupo O quando comparado ao grupo C, $p<0,05$

Parâmetros bioquímicos

Os resultados referentes às dosagens bioquímicas dos grupos estão descritos na Tabela 2. O grupo DC apresentou valores maiores que os grupos C e O de glicemia (C= 86,4 ± 6,5, O= 91,6 ± 9,9, DC= 132,3 ± 60,3mg/dL, p<0,05), insulinemia (C= 7,2 ± 3,3, O= 14,2 ± 6,5, DC= 30,1 ± 21,5µUI/mL, p<0,05), HbA1c (C= 5,2 ± 0,3, O= 5,6 ± 0,4, DC= 7,8 ± 1,7%, p<0,05), HOMA-IR (C= 1,56 ± 0,75, O= 3,12 ± 1,41, DC= 9,79 ± 7,81, p<0,05) e leptina (C= 18,6 ± 8,9, O= 50,9 ± 20,2, DC= 64,8 ± 28,3ng/mL, p<0,05). O grupo DC apresentou menores valores que os grupos C e O de osteocalcina (C= 8,8 ± 3,5, O= 6,1 ± 2,6, DC= 3,3 ± 1,4ng/mL, p<0,05) (Figura 7, Figura 8, Figura 9, Figura 10, Figura 11, Figura 12).

O grupo DC comparado ao grupo C apresentou maiores valores de FA (C= 143,8 ± 28,4, O= 174,6 ± 50,2, DC= 193,7 ± 39,2U/L, p<0,05) e creatinina (C= 0,74 ± 0,11, O= 0,80 ± 0,13, DC= 0,89 ± 0,27mg/dL, p<0,05), mas menores valores de 25-OH vitamina D (C= 23,8 ± 9,0, O= 22,1 ± 5,6, DC= 16,9 ± 7,2ng/mL, p<0,05), PTH (C= 44,5 ± 21,3, O= 39,6 ± 19,9, DC= 29,3 ± 15,1pg/mL, p<0,05) e adiponectina (C= 21,7 ± 14,8, O= 15,1 ± 18,9, DC= 12,0 ± 8,0ng/mL, p<0,05). O grupo O apresentou maior valor que o grupo C de fosfatase alcalina e menores valores de osteocalcina e adiponectina (Figura 13, Figura 14, Figura 15, Figura 16).

Não houve diferenças entre os indivíduos em relação aos valores de albumina (C= 4,3 ± 0,2, O= 4,2 ± 0,3, DC= 4,3 ± 0,2g/dL), cálcio total (C= 9,6 ± 0,7, O= 9,6 ± 0,6, DC= 9,7 ± 0,5mg/dL), fósforo inorgânico (C= 3,6 ± 0,4, O= 3,4 ± 0,3, DC= 3,7 ± 0,7mg/dL), IGF-I (C= 232,5 ± 85,3, O= 192,3 ± 97,5, DC= 221,8 ± 92,7ng/dL) e Pref-1 (C= 62,3 ± 76,2, O= 81,4 ± 68,8, DC= 56,4 ± 54,1ng/mL).

Com relação aos níveis séricos de 25(OH)D, quando utilizado os critérios do *Institute of Medicine* (IOM), ilustrado na Tabela 3, a prevalência de baixos níveis de vitamina D foi de 40,7% no grupo C (n=11), 43,7% no grupo O (n=07) e 62,5% no grupo DC (n=10) (*Institute of Medicine*, 2011). Quando utilizado os critérios da *Endocrine Society Clinical Practice Guideline* (ESCPG), ilustrado na Tabela 4, a prevalência de baixos níveis de vitamina D foi de 74,0% no grupo C (n=20), 93,7% no grupo O (n=15) e 93,7% no grupo DC (n=15) (Holick *et al.*, 2011).

Tabela 2 - Resultados dos exames bioquímicos nos grupos controle, obeso e doença de Cushing

	C (n=27)	O (n=16)	DC (n=16)
Glicemia (mg/dL)	86,4 ± 6,5	91,6 ± 9,9	132,3 ± 60,3*§
Insulinemia (uUI/mL)	7,2 ± 3,3	14,2 ± 6,5	30,1 ± 21,5*§
HOMA-IR	1,56 ± 0,75	3,12 ± 1,41	9,79 ± 7,81*§
HbA1c (%)	5,2 ± 0,3	5,6 ± 0,4	7,8 ± 1,7*§
Albumina (g/dL)	4,3 ± 0,2	4,2 ± 0,3	4,3 ± 0,2
Cálcio total (mg/mL)	9,6 ± 0,7	9,6 ± 0,6	9,7 ± 0,5
Fósforo inorgânico (mg/dL)	3,6 ± 0,4	3,4 ± 0,3	3,7 ± 0,7
Fosfatase alcalina (U/L)	143,8 ± 28,4	174,6 ± 50,2#	193,7 ± 39,2*
Creatinina (mg/dL)	0,74 ± 0,11	0,80 ± 0,13	0,89 ± 0,27*
IGF-I (ng/dL)	232,5 ± 85,3	192,3 ± 97,5	221,8 ± 92,7
25(OH)D (ng/mL)	23,8 ± 9,0	22,1 ± 5,6	16,9 ± 7,2*
PTH (pg/mL)	44,5 ± 21,3	39,6 ± 19,9	29,3 ± 15,1*
Osteocalcina (ng/mL)	8,8 ± 3,5	6,1 ± 2,6#	3,3 ± 1,4*§
Adiponectina (ng/mL)	21,7 ± 14,8	15,1 ± 18,9	12,0 ± 8,0*
Leptina (ng/mL)	18,6 ± 8,9	50,9 ± 20,2#	64,8 ± 28,3*§
Pref-1 (ng/mL)	62,3 ± 76,2	81,4 ± 68,8	56,4 ± 54,1

Nota. C = grupo controle; O = grupo obeso; DC = grupo doença de Cushing; HOMA-IR = *Homeostatic model assessment – insulin resistance*; HbA1c = hemoglobina glicosilada; IGF-I = fator de crescimento semelhante à insulina tipo I, 25(OH)D = 25-hidroxivitamina D; PTH = paratormônio; Pref-1 = *Preadipocyte factor 1*
* significa diferença entre o DC quando comparado ao grupo C, p<0,05
§ significa diferença entre o grupo DC quando comparado ao grupo O, p<0,05
# significa diferença entre o grupo O quando comparado ao grupo C, p<0,05

Tabela 3 – Classificação dos níveis de 25-hidroxivitamina D nos grupos de acordo com o IOM nos grupos controle, obeso e doença de Cushing

25(OH)D	C (n=27)	O (n=16)	DC (n=16)
Normal (≥20ng/mL)	16 (59,3%)	9 (56,3%)	6 (37,5%)
Deficiente (<20ng/mL)	11 (40,7%)	7 (43,7%)	10 (62,5%)

Nota. C = grupo controle; O = grupo obeso; DC = grupo doença de Cushing; IOM = *Institute of Medicine*

Tabela 4 – Classificação dos níveis de 25-hidroxivitamina D nos grupos de acordo com a ESCPG nos grupos controle, obeso e doença de Cushing

25(OH)D	C (n=27)	O (n=16)	DC (n=16)
Desejável (≥30ng/mL)	7 (26,0%)	1 (6,3%)	1 (6,3%)
Insuficiente (20-29ng/mL)	9 (33,3%)	8 (50,0%)	5 (31,2%)
Deficiente (<20ng/mL)	11 (40,7%)	7 (43,7%)	10 (62,5%)

Nota. C = grupo controle; O = grupo obeso; DC = grupo doença de Cushing; ESCPG = *Endocrine Society Clinical Practice Guideline*

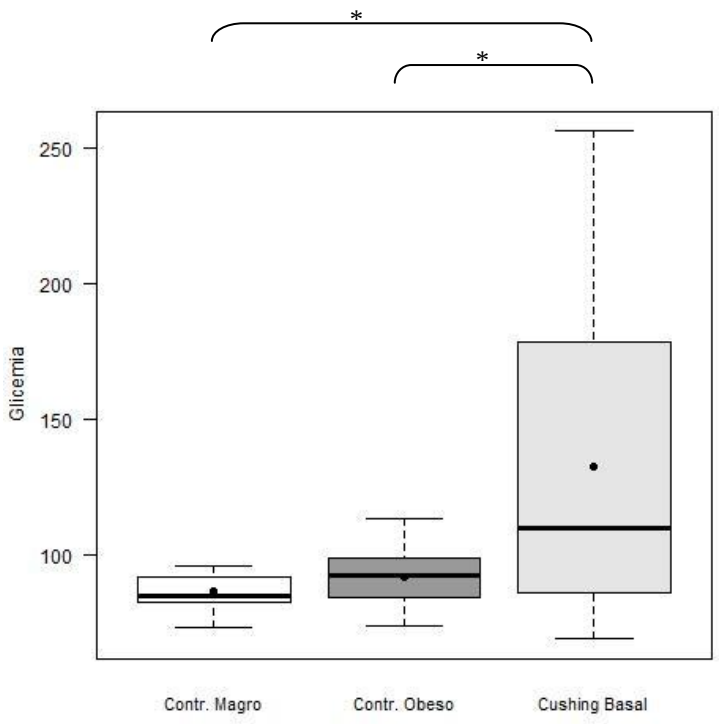

Figura 7 – O gráfico mostra os resultados de glicose sérica (mg/dL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

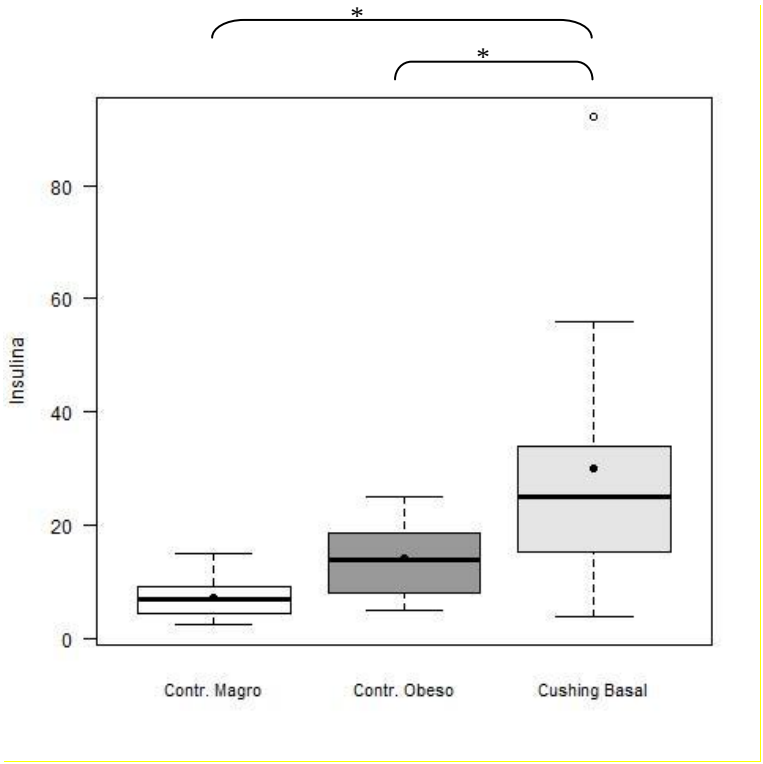

Figura 8 – O gráfico mostra os resultados de insulina sérica (µUI/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

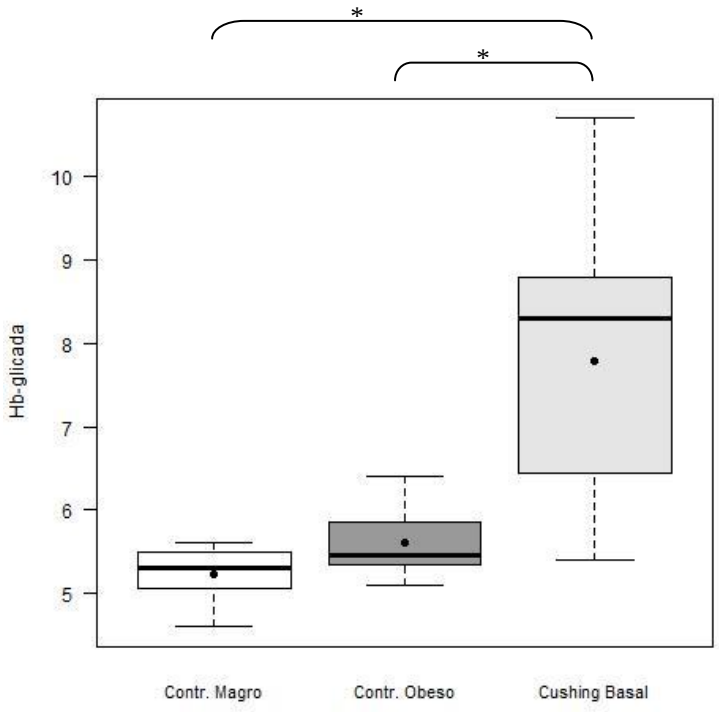

Figura 9 – O gráfico mostra os resultados de hemoglobina glicosilada (%) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

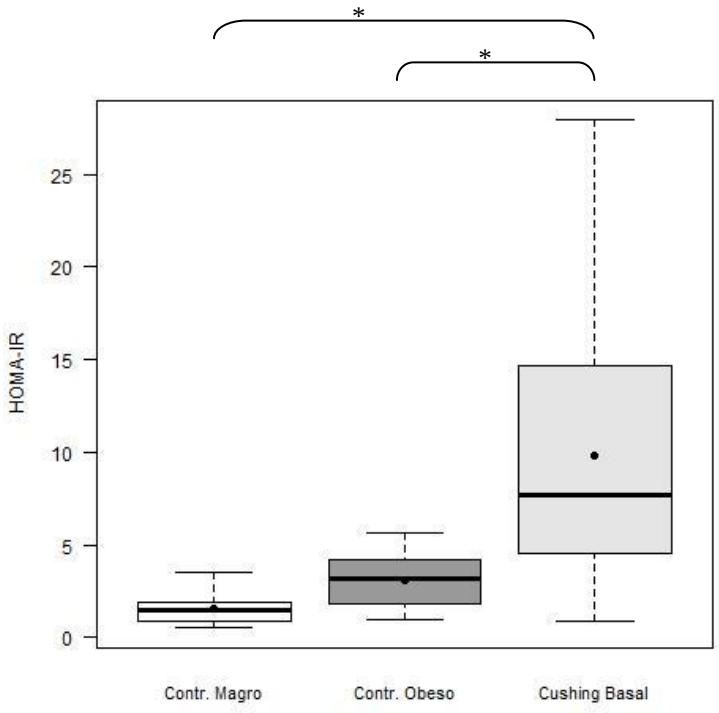

Figura 10 – O gráfico mostra os resultados de HOMA-IR dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05
HOMA-IR: *Homeostatic model assessment – insulin resistance*

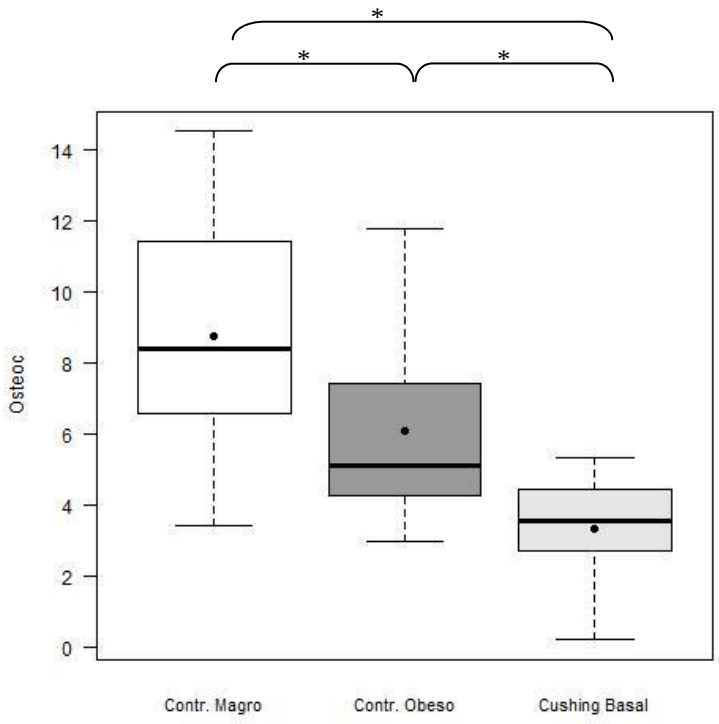

Figura 11 – O gráfico mostra os resultados de osteocalcina sérica (ng/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

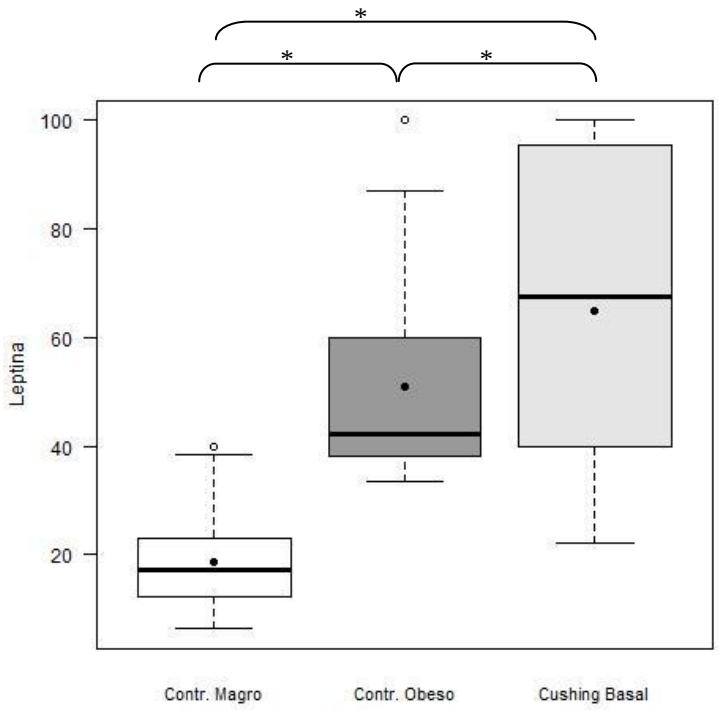

Figura 12 – O gráfico mostra os resultados de leptina sérica (ng/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

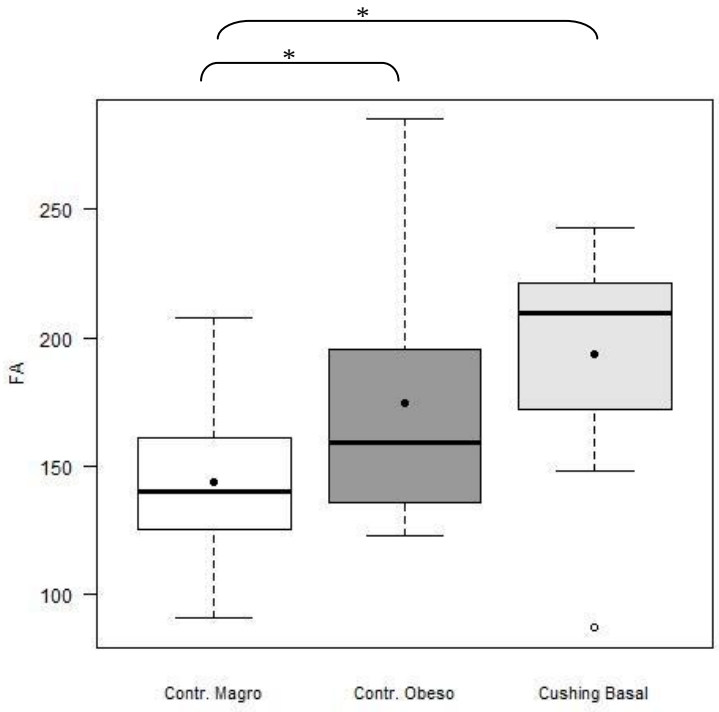

Figura 13–O Gráfico mostra os resultados de fosfatase alcalina sérica (U/L) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

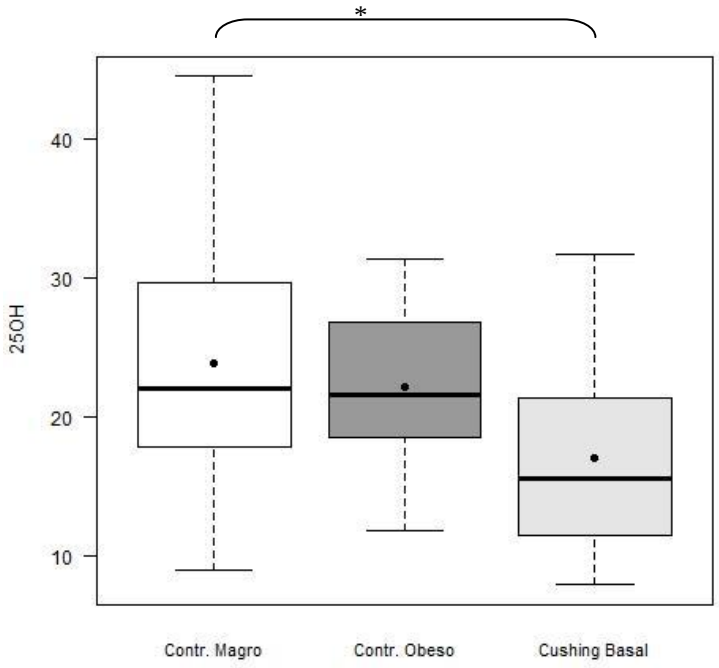

Figura 14–O gráfico mostra os resultados de 25-hidroxivitamina D sérica (ng/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

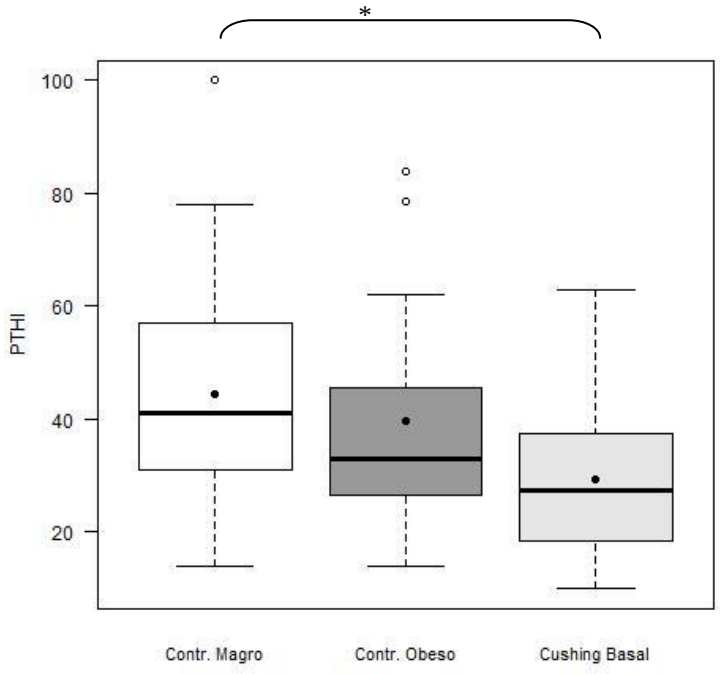

Figura 15 – O gráfico mostra os resultados de paratormônio sérico (pg/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

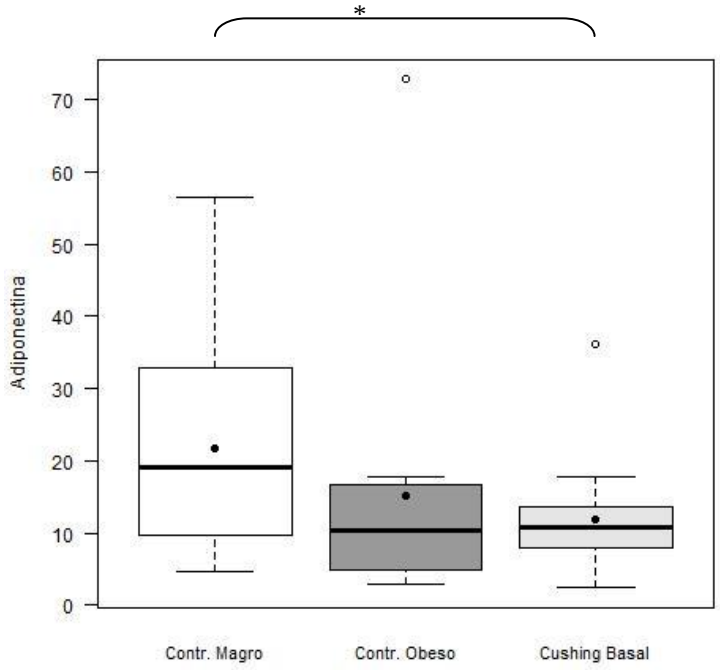

Figura 16 – O gráfico mostra os resultados de adiponectina sérica (ng/mL) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

Densitometria óssea

Na Tabela 5, observamos que na avaliação de DMO dos indivíduos no estudo basal, o grupo DC apresentou menor DMO em relação ao grupo C e ao grupo O em relação à coluna lombar (C=1,022 ± 0,101, O=1,059 ± 0,141, DC=0,928 ± 0,092g/cm², $p < 0,05$) e à vértebra L3 (C=1,059 ± 0,109, O=1,080 ± 0,153, DC=0,933 ± 0,114g/cm², $p < 0,05$), ilustrado na Figura 17. O grupo O apresentou maior valor de DMO de corpo total relação ao grupo C e ao grupo DC (C=1,119 ± 0,081, O=1,176 ± 0,087, DC=1,087 ± 0,085g/cm², $p < 0,05$), Figura 22. Os grupos não diferiram na DMO de quadril total (C=0,937 ± 0,093, O=0,972 ± 0,106, DC=0,920 ± 0,123g/cm²), colo do fêmur (C=0,831 ± 0,106, O=0,887 ± 0,156, DC=0,836 ± 0,173g/cm²), antebraço total (C=0,574 ± 0,033, O=0,567 ± 0,024, DC=0,570 ± 0,040g/cm²) e terço de rádio (C=0,686 ± 0,040, O=0,664 ± 0,037, DC=0,677 ± 0,047g/cm²), ilustrado na Figura 18, Figura 19, Figura 20 e Figura 21.

A Tabela 6 mostra a classificação segundo o Z-score dos indivíduos, onde observamos que apenas um indivíduo do grupo C (3,7%) apresentou baixa massa óssea, nenhum do grupo O apresentou baixa massa óssea e três indivíduos do grupo DC (18,7%) apresentaram baixa massa óssea. Por outro lado, cinco indivíduos do grupo O (31,3%) apresentaram massa óssea elevada, enquanto apenas três indivíduos do grupo C (11,1%) e três indivíduos do grupo DC (18,8%) apresentavam tal classificação.

Tabela 5 - Resultados da densitometria óssea para os grupos controle, obeso e doença de Cushing

	C (n=27)	O (n=16)	DC (n=16)
Coluna lombar			
DMO (g/cm²)	1,022 ± 0,101	1,059 ± 0,141	0,928 ± 0,092*§
Z-score	0,0 ± 1,0	0,5 ± 1,2	-0,9 ± 0,8*§
Vértebra L3			
DMO (g/cm²)	1,059 ± 0,109	1,080 ± 0,153	0,933 ± 0,114*§
Z-score	0,0 ± 1,1	0,3 ± 1,3	-1,1 ± 1,0*§
Quadril Total			
DMO (g/cm²)	0,937 ± 0,093	0,972 ± 0,106	0,920 ± 0,123
Z-score	0,1 ± 0,8	0,5 ± 0,8	-0,1 ± 1,1
Colo do fêmur			
DMO (g/cm²)	0,831 ± 0,106	0,887 ± 0,156	0,836 ± 0,173
Z-score	0,1 ± 1,0	0,7 ± 1,3	0,1 ± 1,6
Antebraço total			
DMO (g/cm²)	0,574 ± 0,033	0,567 ± 0,024	0,570 ± 0,040
Z-score	0,1 ± 0,7	0,2 ± 0,5	0,2 ± 0,9
Terço do rádio			
DMO (g/cm²)	0,686 ± 0,040	0,664 ± 0,037	0,677 ± 0,047
Z-score	0,2 ± 0,7	-0,1 ± 0,7	0,1 ± 0,9
Corpo total			
DMO (g/cm²)	1,119 ± 0,081	1,176 ± 0,087#	1,087 ± 0,085§
Z-score	0,5 ± 1,0	1,3 ± 0,9#	0,2 ± 1,1§

Nota. C = grupo controle; O = grupo obeso; DC = grupo doença de Cushing; DMO = densidade mineral óssea
* significa diferença entre o DC quando comparado ao grupo C, p<0,05
§ significa diferença entre o grupo DC quando comparado ao grupo O, p<0,05
# significa diferença entre o grupo O quando comparado ao grupo C, p<0,05

Tabela 6 - Resultados da classificação dos indivíduos segundo o Z-score nos grupos controle, obeso e doença de Cushing

Z-score	C (n=27)	O (n=16)	DC (n=16)
Massa óssea normal (> -2,0DP)	26 (96,3%)	16 (100%)	13 (81,3%)
Baixa massa óssea (≤ -2,0DP)	1 (3,7%)	-	3 (18,7%)
Massa óssea elevada (≥ +2,0DP)	3 (11,1%)	5 (31,3%)	3 (18,8%)

Nota. C = grupo controle; O = grupo obeso; DC = grupo doença de Cushing; DP = desvio-padrão

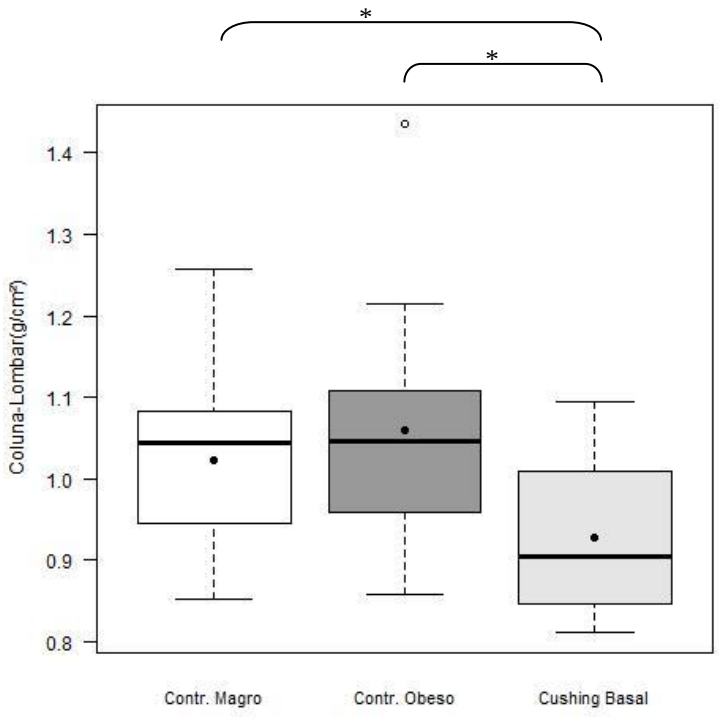

Figura 17 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de coluna lombar (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

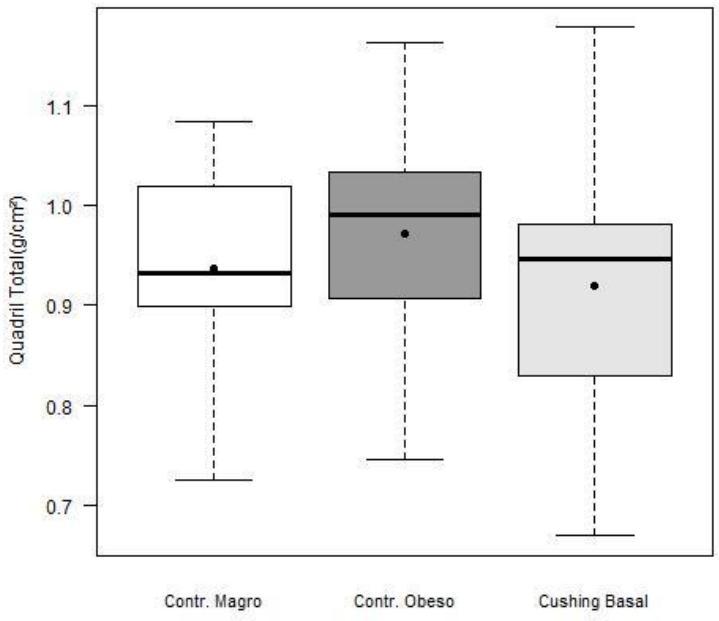

Figura 18 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea quadril total (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing

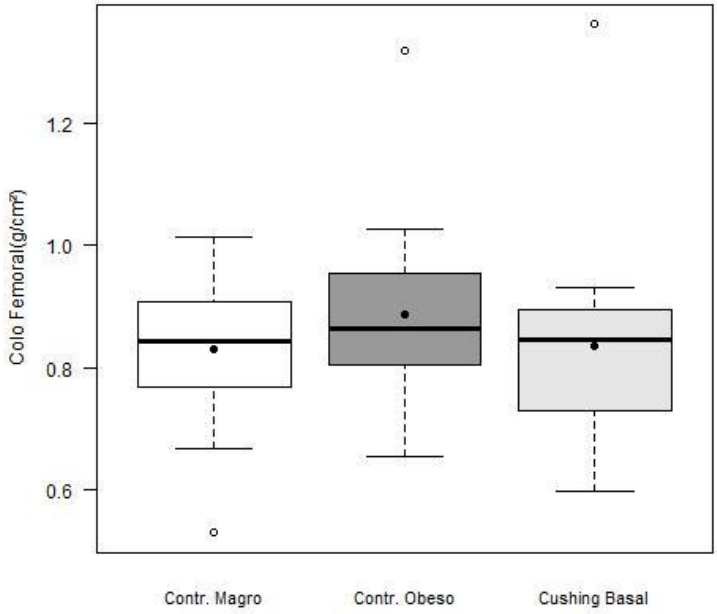

Figura 19 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de colo do fêmur (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing

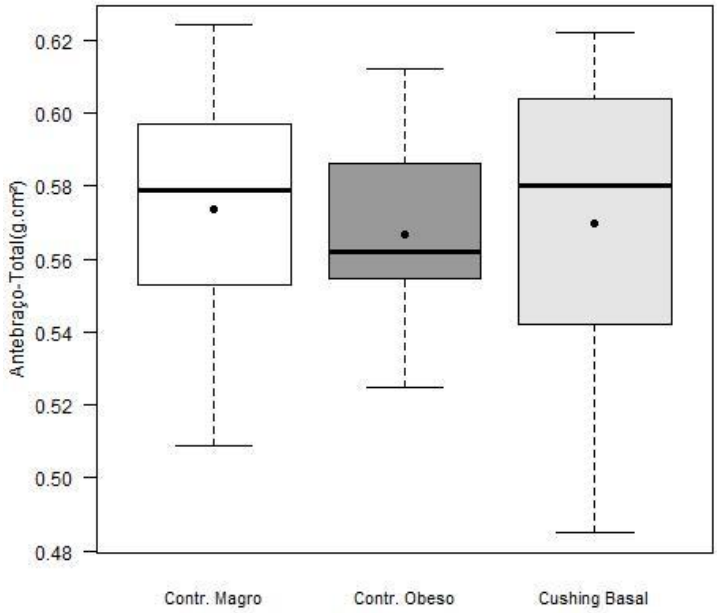

Figura 20 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de antebraço total (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing

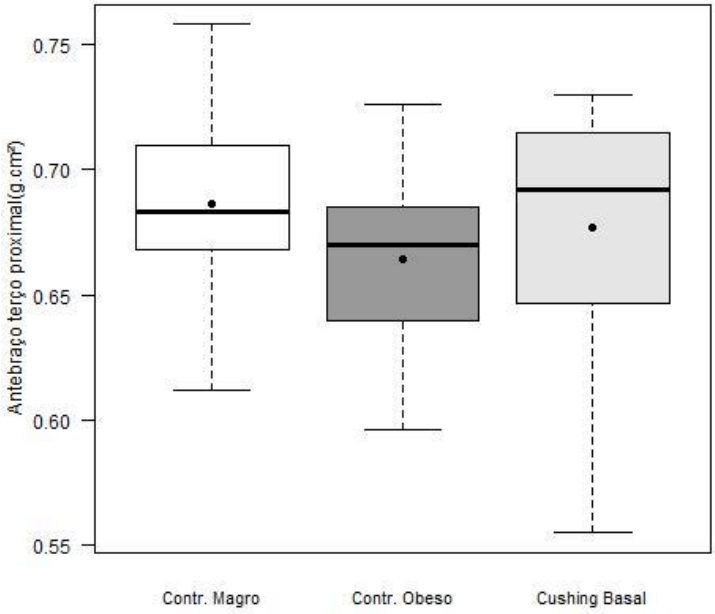

Figura 21 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de terço de rádio (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing

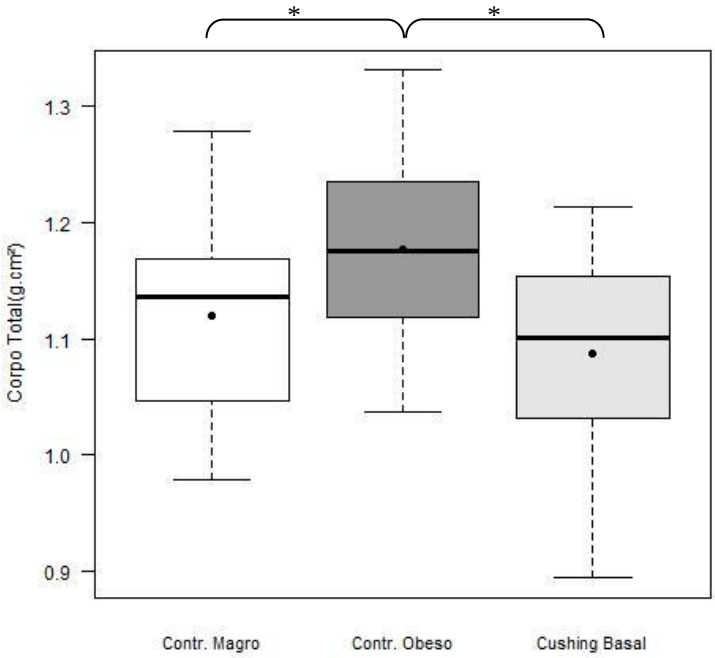

Figura 22 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de corpo total (g/cm²) dos grupos controle, obeso e doença de Cushing

* significa diferença entre os grupos, $p<0,05$

Em relação ao TBS de coluna lombar (Tabela 7), o grupo DC apresentou menor valor que o grupo C e o grupo O, e também o grupo O apresentou menor valor que o grupo C quando avaliado coluna lombar (C= 1,512 ± 0,077, O=1,405 ± 0,150, DC=1,208 ± 0,152, $p<0,05$), ilustrado na Figura 23. Quando avaliado TBS apenas de L3, o grupo DC manteve menor valor em relação aos grupos C e O (C=1,547 ± 0,091, O=1,484 ± 0,119, DC=1,233 ± 0,192, $p<0,05$).

Na Análise de Fraturas Vertebrais (VFA), observamos que dois indivíduos do grupo C apresentavam fratura vertebral, sendo que um indivíduo apresentava fratura de grau leve em vértebra L3 e o outro indivíduo apresentava fratura de grau moderado em vértebra T6. No grupo DC, um indivíduo apresentava fratura moderada em vértebra T12. Não foram observadas fraturas vertebrais no grupo O. O indivíduo controle com fratura de vértebra L3 apresentou TBS de coluna lombar de 1,417 e TBS de L3 de 1,396.

Tabela 7 – Resultados de *Trabecular Bone Score* dos grupos controle, obeso e doença de Cushing

TBS	C (n=27)	O (n=13)	DC (n=14)
Coluna lombar	1,512 ± 0,077	1,405 ± 0,150#	1,208 ± 0,152*§
Vértebra L3	1,547 ± 0,091	1,484 ± 0,119	1,233 ± 0,192*§

Nota. C = grupo controle; O = grupo obeso; DC = grupo doença de Cushing; TBS = *Trabecular bone score*
* significa diferença entre o DC quando comparado ao grupo C, $p<0,05$
§ significa diferença entre o grupo DC quando comparado ao grupo O, $p<0,05$
# significa diferença entre o grupo O quando comparado ao grupo C, $p<0,05$

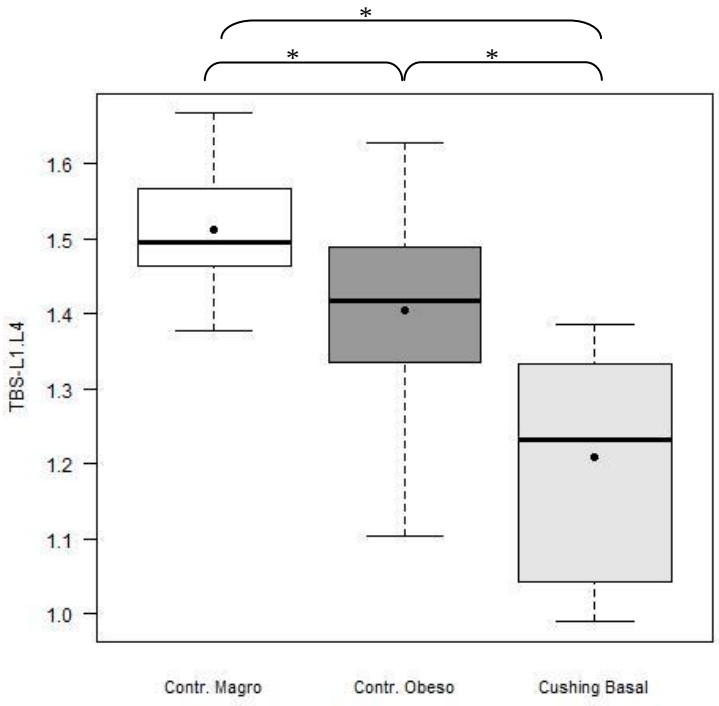

Figura 23 – O gráfico mostra os resultados de *trabecular bone score* de coluna lombar dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

Na avaliação de composição corporal por DXA (Tabela 8), observamos que tanto o grupo DC como o grupo O apresentaram maiores valores que o grupo C em relação à massa gorda total (C=21,8 ± 4,6, O=35,1 ± 9,4, DC= 40,3 ± 11,5Kg, p<0,05), massa magra total (C=36,1 ± 4,4, O=43,3 ± 6,9, DC= 43,9 ± 8,7Kg, p<0,05), massa magra apendicular (C=14,9 ± 2,3, O=18,0 ± 3,4, DC= 17,1 ± 4,0Kg, p<0,05), gordura corporal total (C=36,1 ± 4,2, O=43,1 ± 4,1, DC= 46,2 ± 7,0%, p<0,05), índice de massa gorda (IMG) (C=7,99 ± 1,57, O=13,81 ± 3,11, DC= 15,30 ± 4,29Kg/m², p<0,05) e de índice de massa magra apendicular (IMMA) pelos critérios de Baumgartner (C=5,47 ± 0,73, O=7,07 ± 1,03, DC=6,49 ± 1,35Kg/m², p<0,05) (Baumgartner *et al.*, 1998; Kelly *et al.*, 2009). O grupo DC e o grupo O apresentaram menores valores que o grupo C em relação ao IMMA pelos critérios da *Foundation for the National Institutes of Health* (FNIH) (C=0,633 ± 0,104, O=0,570 ± 0,062, DC=0,516 ± 0,100m², p<0,05) (Mclean *et al.*, 2014). Os gráficos de IMG e de IMMA estão ilustrados nas Figura 24, Figura 25 e Figura 26.

A Tabela 9 descreve a classificação dos indivíduos do estudo basal segundo a composição corporal por DXA (Baumgartner *et al.*, 1998; Kelly *et al.*, 2009; Mclean *et al.*, 2014). Nesta avaliação, observamos que nove indivíduos do grupo C apresentavam sobrepeso

(33,3%). No grupo O, um indivíduo apresentou eutrofia (6,2%), sete apresentaram sobrepeso (43,8%), quatro apresentaram obesidade grau I (25%), quatro apresentaram obesidade grau II (25%), mas nenhum apresentou obesidade grau III. No grupo DC, um indivíduo apresentou eutrofia (6,2%), três apresentaram sobrepeso (18,8%), oito apresentaram obesidade grau I (50%), dois apresentaram obesidade grau II (12,5%) e dois apresentaram obesidade grau III (12,5%). A prevalência de baixa massa magra, quando avaliado o IMMA pelos critérios de Baumgartner, foi de catorze indivíduos no grupo C (51,9%), nenhum indivíduo no grupo O e três indivíduos no grupo DC (18,7%). A prevalência de baixa massa magra, quando avaliado o IMMA pelos critérios do FNIH, foi de nenhum indivíduo no grupo C, dois indivíduos no grupo O (12,5%) e oito indivíduos no grupo DC (50%).

Tabela 8 - Resultados da composição corporal através de densitometria para os grupos controle, obeso e doença de Cushing

	C (n=27)	**O (n=16)**	**DC (n=16)**
Massa gorda total (Kg)	21,8 ± 4,6	35,1 ± 9,4#	40,3 ± 11,5*
Massa magra total (Kg)	36,1 ± 4,4	43,3 ± 6,9#	43,9 ± 8,7*
Massa magra apendicular (Kg)	14,9 ± 2,3	18,0 ± 3,4#	17,1 ± 4,0*
Gordura corporal total (%)	36,1 ± 4,2	43,1 ± 4,1#	46,2 ± 7,0*
IMG (Kg/m²)	7,99 ± 1,57	13,81 ± 3,11#	15,30 ± 4,29*
IMMA			
Baumgartner (Kg/m²)	5,47 ± 0,73	7,07 ± 1,03#	6,49 ± 1,35*
FNIH (m²)	0,663 ± 0,104	0,570 ± 0,062#	0,516 ± 0,100*

Nota. C = grupo controle; O = grupo obeso; DC = grupo doença de Cushing; IMG = índice de massa gorda; IMMA = índice de massa magra apendicular; FNIH = *Foundation for the National Institutes of Health*
* significa diferença entre o DC quando comparado ao grupo C, $p<0,05$
# significa diferença entre o grupo O quando comparado ao grupo C, $p<0,05$

Tabela 9 - Resultados da classificação dos indivíduos segundo a composição corporal por densitometria nos grupos controle, obeso e doença de Cushing

	C (n=27)	O (n=16)	DC (n=16)
IMG (Kg/m²)			
Eutrófico (5,0-9,0)	18 (66,7%)	1 (6,2%)	1 (6,2%)
Sobrepeso (9,1-13,0)	9 (33,3%)	7 (43,8%)	3 (18,8%)
Obesidade grau I (13,1-17,0)	-	4 (25%)	8 (50%)
Obesidade grau II (17,1-21,0)	-	4 (25%)	2 (12,5%)
Obesidade grau III (≥21,1)	-	-	2 (12,5%)
IMMA – Baumgartner (Kg/m²)			
Massa magra adequada (≥5,45)	13 (48,1%)	16 (100%)	13 (81,3%)
Baixa massa magra (<5,45)	14 (51,9%)	-	3 (18,7%)
IMMA – FNIH (m²)			
Massa magra adequada (≥0,512)	27 (100%)	14 (87,5%)	8 (50%)
Baixa massa magra (<0,512)	-	2 (12,5%)	8 (50%)

Nota. C = grupo controle; O = grupo obeso; DC = grupo doença de Cushing; IMG = índice de massa gorda; IMMA = índice de massa magra apendicular; FNIH = *Foundation for the National Institutes of Health*

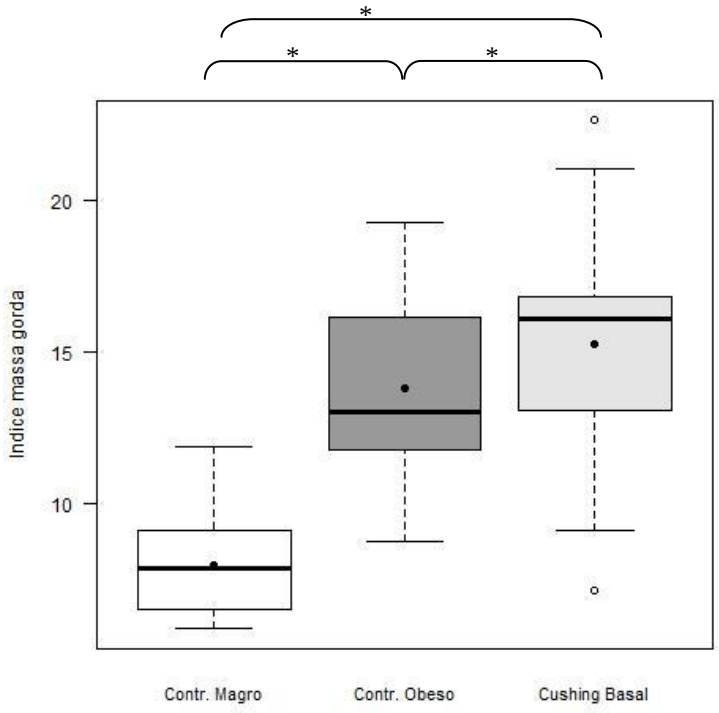

Figura 24 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa gorda (Kg/m²) obtidos por composição corporal dos grupos controle, obeso e doença de Cushing

* significa diferença entre os grupos, p<0,05

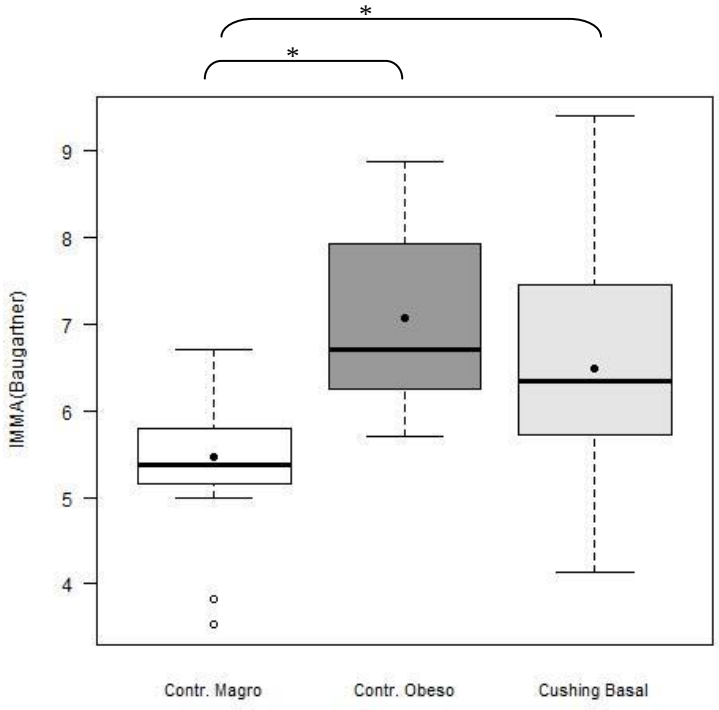

Figura 25 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa magra apendicular (Kg/m²) obtidos por composição corporal pelos critérios de Baumgartner dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

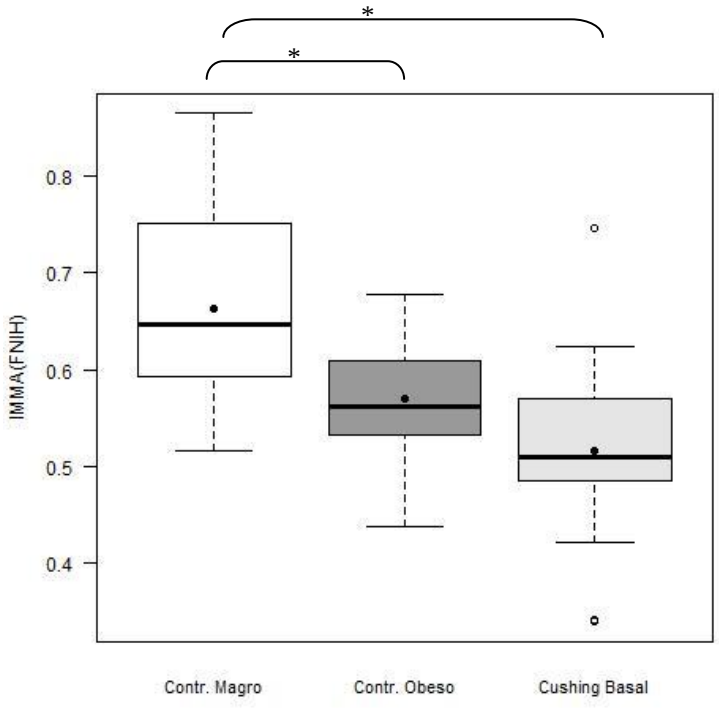

Figura 26 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa magra apendicular (m²) obtidos por composição corporal pelos critérios do FNIH dos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05
FNIH = *Foundation for the National Institutes of Health*

Ressonância magnética

A Tabela 10 ilustra os resultados obtidos por MRS de prótons em L3 nos indivíduos do estudo basal. A AMO de L3 foi significativamente maior no grupo DC quando comparado aos grupos C e O (C=23,52 ± 8,56, O=28,04 ± 6,29, DC=38,37 ± 8,31%, p<0,05) (Figura 27).

Tabela 10 - Resultados de espectroscopia de prótons por ressonância magnética em coluna lombar para os grupos controle, obeso e doença de Cushing

	C (n=25)	O (n=14)	DC (n=15)
AMO de L3 (%)	23,52 ± 8,56	28,04 ± 6,29	38,37 ± 8,31*§

Nota. C = grupo controle; O = grupo obeso; DC = grupo doença de Cushing; AMO de L3 = adiposidade de medula óssea de terceira vértebra lombar
* significa diferença entre o DC quando comparado ao grupo C, p<0,05
§ significa diferença entre o grupo DC quando comparado ao grupo O, p<0,05

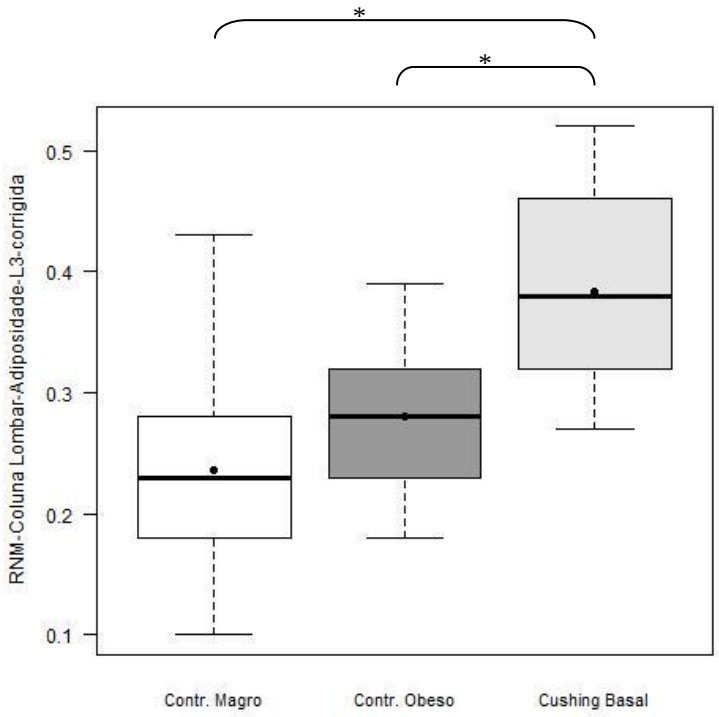

Figura 27 – O gráfico mostra os resultados de adiposidade de medula óssea de terceira vértebra lombar (%) obtidos por ressonância magnética nos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

A Tabela 11 ilustra os dados de quantificação de SAT, VAT e IHL por RM. No grupo DC, quando comparado ao grupo C, observou-se maiores valores na área de SAT (C=18.167,96 ± 8.185,70, O=38.769,27 ± 14.876,64, DC=35.843,02 ± 15.438,36mm², p<0,05), área de VAT (C=2.393,07 ± 2.313,35, O=9.568,85 ± 4.095,02, DC=14.190,98 ± 6.259,15mm², p<0,05), na relação VAT/SAT (C=0,12 ± 0,07, O=0,28 ± 0,14, DC=0,46 ± 0,32, p<0,05) e na taxa de IHL (C=1,61 ± 0,93, O=8,59 ± 8,39, DC=13,75 ± 13,63%, p<0,05). O grupo DC quando comparado ao grupo O apresentou maior valor de área de VAT. O grupo O quando comparado ao grupo C apresentou maiores valores de áreas de SAT e VAT (Figura 28, Figura 29, Figura 30 e Figura 31).

Tabela 11 - Resultados da ressonância magnética de abdômen para os grupos controle, obeso e doença de Cushing

	C (n=13)	O (n=9)	DC (n=12)
Área de SAT (mm²)	18.167,96 ± 8.185,70	38.769,27 ± 14.876,64#	35.843,02 ± 15.438,36*
Área de VAT (mm²)	2.393,07 ± 2.313,35	9.568,85 ± 4.095,02#	14.190,98 ± 6.259,15*§
VAT/SAT	0,12 ± 0,07	0,28 ± 0,14	0,46 ± 0,32*
IHL (%)	1,61 ± 0,93	8,59 ± 8,39	13,75 ± 13,63*

Nota. C = grupo controle; O = grupo obeso; DC = grupo doença de Cushing; SAT = tecido adiposo subcutâneo; VAT = tecido adiposo visceral; VAT/SAT = relação entre VAT e SAT; IHL = lipídeos intra-hepáticos
* significa diferença entre o DC quando comparado ao grupo C, p<0,05
§ significa diferença entre o grupo DC quando comparado ao grupo O, p<0,05
# significa diferença entre o grupo O quando comparado ao grupo C, p<0,05

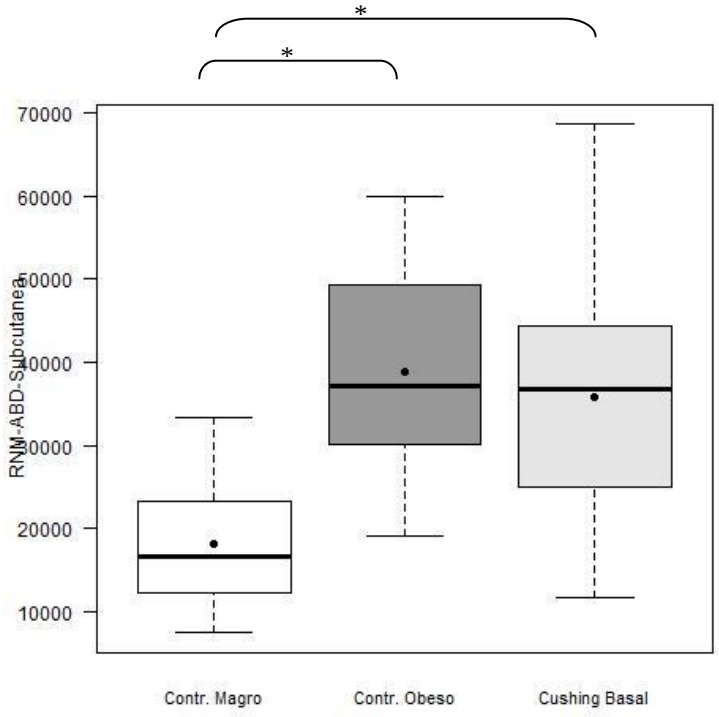

Figura 28 – O gráfico mostra os resultados da área de tecido adiposo subcutâneo (mm²) obtidos por ressonância magnética nos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

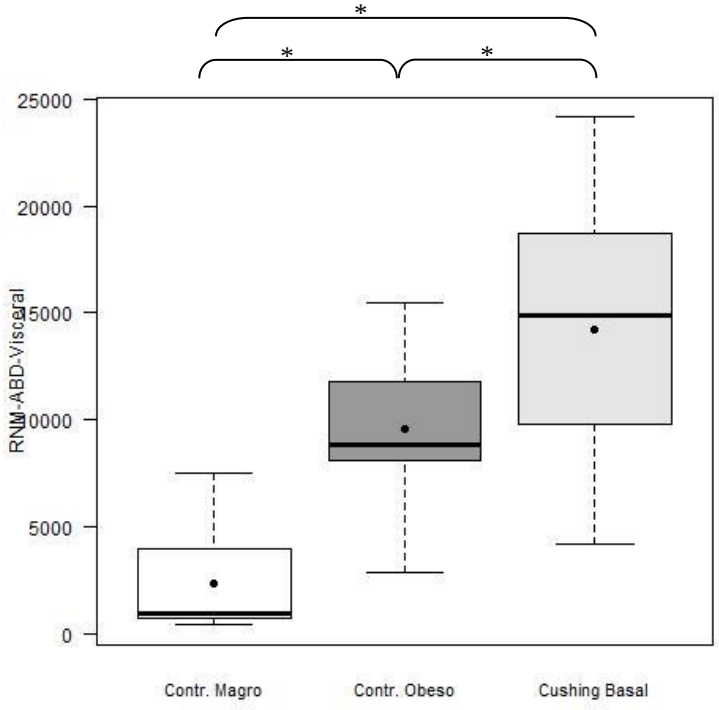

Figura 29 – O gráfico mostra os resultados da área de tecido adiposo visceral (mm²) obtidos por ressonância magnética nos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

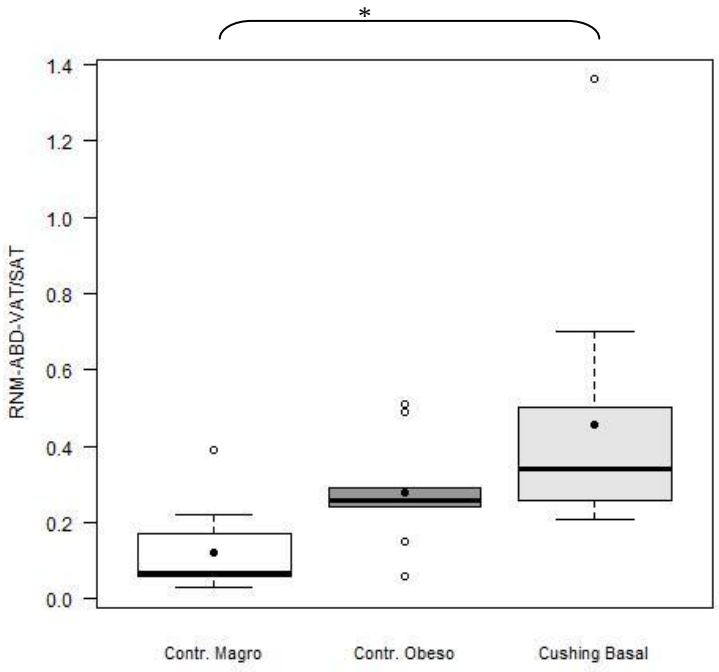

Figura 30 – O gráfico mostra os resultados da relação das áreas entre tecido adiposo visceral e subcutâneo obtidos por ressonância magnética nos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

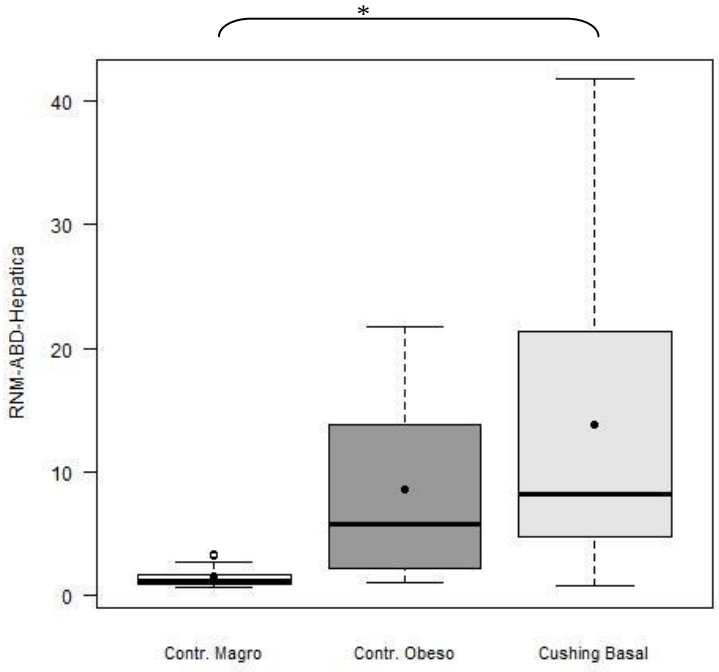

Figura 31 – O gráfico mostra os resultados de lipídeos intra-hepáticos (%) obtidos por ressonância magnética nos grupos controle, obeso e doença de Cushing
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

Correlações

As correlações observadas entre os diversos parâmetros bioquímicos, hormonais, DMO, TBS, AMO, SAT, VAT, IHL e VAT/SAT estão descritas nas Tabela 12**,** Tabela 13**,** Tabela 14**,** Tabela 15**,** Tabela 16 e Tabela 17**.**

Quando avaliado as correlações no estudo basal dos grupos C, O e DC, a idade se correlacionou positivamente com a AMO de L3 (r=0,4, p<0,01). O peso se correlacionou positivamente com DMO do colo femoral (r=0,3, p<0,01). O IMC se correlacionou positivamente com AMO de L3 (r=0,4, p<0,01) e negativamente com o TBS (r=-0,6, p<0,0001). A CA se correlacionou positivamente com AMO de L3 (r=0,6, p< 0,01) e negativamente com TBS (r=-0,8, p<0,0001). Como esperado, tanto o peso, IMC e CA se correlacionaram positivamente com IMG, SAT, VAT e IHL (Tabela 12). A glicemia se correlacionou positivamente com AMO de L3 (r=0,4, p<0,01). A insulinemia e o HOMA-IR se correlacionaram negativamente com TBS (r=-0,6, p<0,0001). A HbA1c se correlacionou positivamente com AMO de L3 (r=0,6, p<0,01) e negativamente com TBS (r=-0,5, p<0,01). Conforme esperado, a insulinemia e o HOMA-IR se correlacionaram positivamente com IMG e VAT (Tabela 12). Os níveis de FA se correlacionaram positivamente com AMO de L3 (r=0,4, p<0,01). O IGF-I não se correlacionou com nenhum dos parâmetros avaliados. A osteocalcina se correlacionou negativamente com AMO de L3 (r=-0,4, p<0,01) e positivamente com TBS (r=0,5, p< 0,0001). A leptina se correlacionou negativamente com TBS (-0,6, p<0,0001). A adiponectina se correlacionou inversamente com VAT (r=-0,5, p<0,01). O Pref-1 não se correlacionou com nenhum dos parâmetros avaliados. Como esperado, a leptina se correlacionou positivamente com IMG, SAT e VAT (Tabela 12). O IMG se correlacionou positivamente com DMO de colo do fêmur (r=0,3, p<0,01) e negativamente com TBS (r=-0,7, p<0,0001). O IMMA pelos critérios de Baumgartner se correlacionou positivamente com DMO de quadril total (r= 0,4, p<0,01) e colo do fêmur (r=0,4, p<0,01), mas negativamente com TBS (r=-0,5, p<0,001). O IMMA pelos critérios de FNIH se correlacionou positivamente com TBS (r=0,5, p<0,001). A AMO de L3 se correlacionou negativamente com DMO de coluna lombar (r=-0,3, p<0,05) e TBS (r=-0,05, p<0,001). O SAT se correlacionou positivamente com DMO de quadril total (r=0,5, p<0,01), colo do fêmur (r=0,5, p<0,01) e corpo total (r=0,4, p<0,05), mas negativamente com TBS (r=-0,7, p<0,0001). O VAT e o IHL se correlacionaram negativamente com TBS (r=-0,8, p<0,0001 e r=-0,6, p<0,001, respectivamente). A relação VAT/SAT se correlacionou negativamente com TBS (r=-0,4, p<0,05).

Quando avaliado as correlações no estudo basal apenas do grupo DC, observamos que o peso, IMC e CA se correlacionaram positivamente com DMO de quadril total e colo do fêmur. Adicionalmente, o peso e o IMC se correlacionaram positivamente com DMO de corpo total (Tabela 16). A FA se correlacionou positivamente com IHL (r=0,47, p<0,01). A adiponectina se correlacionou negativamente com AMO de L3 (r=-0,6, p<0,05). A osteocalcina e o Pref-1 não se correlacionaram com nenhum dos parâmetros avaliados. O IMG se correlacionou positivamente com a DMO de quadril total (r=0,7, p<0,01) e colo do fêmur (r=0,7, p<0,01). O SAT também se correlacionou positivamente com a DMO de quadril total (r=0,8, p<0,01) e colo do fêmur (r=0,9, p<0,001). O IHL se correlacionou positivamente com DMO de coluna lombar (r=0,7, p<0,01). A AMO de L3 não se correlacionou nem com DMO ou TBS.

Tabela 12 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo e peptídeos de origem no tecido adiposo com as medidas de composição corporal por DXA e de adiposidade obtidas por RM no estudo basal dos grupos C (n=27), O (n=16) e DC (n=16)

Parâmetros	IMG	IMMA (Baumgartner)	IMMA (FNIH)	AMO	SAT	VAT	IHL	VAT/SAT
Idade	0,0	0,0	-0,2	0,4**	0,0	0,2	0,1	0,4*
Peso	0,9****	0,7****	-0,3*	0,3*	0,8****	0,7****	0,6***	0,2
IMC	0,9****	0,7****	-0,5****	0,4**	0,9****	0,8****	0,6***	0,3
CA	0,9****	0,6***	-0,6***	0,6***	0,8****	0,9****	0,5**	0,4*
Glicemia	0,1	0,1	-0,2	0,4**	0,1	0,4**	0,5**	0,6***
Insulina	0,5****	0,6****	-0,1	0,3	0,4*	0,5**	0,3	0,3
HOMA-IR	0,4**	0,5****	-0,1	0,3*	0,4*	0,5**	0,4*	0,4*
HbA1c	0,5**	0,3	-0,3*	0,6**	0,4*	0,7****	0,6***	0,6**
FA	0,4**	0,2	-0,4**	0,4**	0,0	0,2	0,1	0,3*
IGF-I	-0,1	0,1	0,3*	-0,2	0,0	-0,3	-0,2	-0,4*
Osteocalcina	-0,6****	-0,4**	0,5****	-0,4**	-0,6***	-0,7****	-0,5**	-0,5**
Leptina	0,8****	0,6****	-0,4**	0,3*	0,6****	0,6***	0,3	0,2
Adiponectina	-0,2	-0,3*	0,1	-0,3	-0,3	-0,5**	-0,4*	-0,5**
Pref-1	0,0	0,1	0,1	-0,1	0,0	0,0	0,2	0,2

Nota: DXA = *dual-energy X-ray absorciometry*; RM = ressonância magnética; IMC = índice de massa corporal; CA = circunferência abdominal; HOMA-IR = *Homeostatic model assessment - insulin resistance*; HbA1c = hemoglobina glicosilada; FA = fosfatase alcalina; IGF-I = fator de crescimento semelhante à insulina; Pref-1 = *preadipocyte factor 1*; IMG = índice de massa gorda; IMMA = índice de massa magra; FNIH = *Foundation for the National Institutes of Health*; AMO = adiposidade de medula óssea; SAT = tecido adiposo subcutâneo; VAT = tecido adiposo visceral; IHL = lipídeos intra-hepáticos; VAT/SAT = relação entre VAT e SAT
*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001

Tabela 13 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo e peptídeos de origem no tecido adiposo com densidade mineral óssea e TBS no estudo basal dos grupos C (n=27), O (n=16) e DC (n=16)

Parâmetro	Coluna lombar	Vértebra L3	Quadril total	Colo do fêmur	Antebraço total	Terço do rádio	Corpo total	TBS L1-L4	TBS L3
Idade	-0,1	-0,1	0,0	-0,1	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0
Peso	0,1	0,0	0,3*	0,3**	0,0	-0,1	0,2	-0,6****	-0,6****
IMC	0,1	0,0	0,3*	0,3*	-0,1	-0,2	0,2	-0,7****	-0,6****
CA	-0,2	-0,3	0,2	0,4*	0,1	0,0	0,2	-0,8****	-0,8****
Glicemia	-0,2	-0,2	0,0	0,1	0,1	0,3	0,0	-0,3*	-0,3*
Insulina	-0,2	-0,2	0,1	0,1	0,0	-0,1	-0,1	-0,6****	-0,6****
HOMA-IR	-0,1	-0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	-0,6****	-0,6****
HbA1c	-0,1	-0,1	0,2	0,3	0,1	0,3	0,1	-0,5**	-0,5**
FA	-0,3*	-0,3**	-0,2	-0,2	0,0	0,0	-0,2	-0,3*	-0,3*
IGF-I	-0,1	-0,1	0,0	0,1	-0,2	0,0	-0,2	0,1	0,1
Osteocalcina	0,0	0,0	-0,2	-0,2	-0,1	0,0	-0,2	0,5****	0,5****
Leptina	-0,1	-0,1	0,2	0,2	-0,1	-0,2	0,1	-0,6****	-0,6****
Adiponectina	0,0	0,0	0,1	-0,1	0,0	0,1	0,0	0,3	0,3
Pref-1	0,1	0,1	0,0	0,0	-0,1	0,1	0,0	0,2	0,2

Nota: TBS = *Trabecular bone score*; IMC = índice de massa corporal; CA = circunferência abdominal; HOMA-IR = *Homeostatic model assessment - insulin resistance*; HbA1c = hemoglobina glicosilada; FA = fosfatase alcalina; IGF-I = fator de crescimento semelhante à insulina; Pref-1 = *preadipocyte factor 1;* TBS L1-L4 = *Trabecular bone score* de coluna lombar; TBS L3 = *Trabecular bone score* de terceira vértebra lombar
*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001

Tabela 14 - Valores (r) da correlação entre medidas de adiposidade obtidas através de composição corporal por DXA e por RM com densidade mineral óssea e TBS no estudo basal dos grupos C (n=27), O (n=16) e DC (n=16)

Parâmetro	Coluna lombar	Vértebra L3	Quadril total	Colo do fêmur	Antebraço total	Terço do rádio	Corpo total	TBS L1-L4	TBS L3
IMG	0,0	-0,1	0,3*	0,3**	-0,1	-0,2	0,2	-0,7****	-0,6****
IMMA									
Baumgartner	0,2	0,1	0,4**	0,4**	0,0	-0,1	0,3*	-0,5***	-0,5***
FNIH	0,2	0,3*	0,1	0,1	0,1	0,2	0,0	0,5***	0,3*
AMO	-0,3*	-0,3*	-0,2	-0,2	0,1	-0,1	-0,1	-0,5***	-0,5***
SAT	0,2	0,1	0,5**	0,5**	-0,1	-0,2	0,4*	-0,7****	-0,6***
VAT	0,0	-0,1	0,2	0,3	0,1	0,0	0,3	-0,8****	-0,7****
IHL	0,2	0,2	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	-0,6***	-0,7***
VAT/SAT	-0,1	-0,1	-0,2	-0,1	0,1	0,1	0,1	-0,4*	-0,4*

Nota: DXA = *dual-energy X-ray absorciometry*; RM = ressonância magnética; TBS = *Trabecular bone score*; IMG = índice de massa gorda; IMMA = índice de massa magra; FNIH = *Foundation for the National Institutes of Health*; AMO = adiposidade de medula óssea; SAT = tecido adiposo subcutâneo; VAT = tecido adiposo visceral; IHL = lipídeos intra-hepáticos; VAT/SAT = relação entre VAT e SAT; TBS L1-L4 = *Trabecular bone score* de coluna lombar; TBS L3 = *Trabecular bone score* de terceira vértebra lombar
*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001

Tabela 15 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo, peptídeos de origem no tecido adiposo com as medidas de composição corporal por DXA e de adiposidade obtidas por RM no estudo basal do grupo DC (n=16)

Parâmetros	IMG	IMMA (Baumgartner)	IMMA (FNIH)	AMO	SAT	VAT	IHL	VAT/SAT
Idade	-0,3	-0,2	0,1	0,4	-0,4	0,1	0,0	0,4
Peso	0,9****	0,7*	-0,1	-0,4	0,9****	0,6	0,2	-0,4
IMC	0,9****	0,5*	-0,2	-0,5	0,9****	0,6*	0,2	-0,4
CA	0,8***	0,1	-0,6*	0,0	0,8**	0,5	0,1	-0,3
Glicemia	-0,4	-0,1	0,2	0,2	-0,3	0,1	0,3	0,5
Insulina	0,1	0,7**	0,6**	-0,3	0,1	-0,2	-0,2	-0,2
HOMA-IR	-0,1	0,6*	0,6*	-0,2	0,0	0,0	0,1	0,1
HbA1c	0,1	0,0	-0,1	0,0	0,1	0,4	0,4	0,4
FA	0,0	0,4	0,4	0,3	0,0	0,4	0,7**	0,6
IGF-I	0,1	0,4	0,3	-0,2	0,4	-0,2	-0,2	-0,4
Osteocalcina	-0,4	0,1	0,5	0,3	0,0	-0,2	-0,3	-0,1
Leptina	0,5*	0,6*	0,2	-0,2	0,3	0,3	-0,1	-0,3
Adiponectina	0,4	-0,1	-0,6*	-0,6*	0,2	-0,2	-0,5	-0,5
Pref-1	-0,2	-0,1	0,0	0,3	0,0	0,2	0,4	0,4

Nota: DXA = *dual-energy X-ray absorciometry*; RM = ressonância magnética; IMC = índice de massa corporal; CA = circunferência abdominal; HOMA-IR = *Homeostatic model assessment - insulin resistance*; HbA1c = hemoglobina glicosilada; FA = fosfatase alcalina; IGF-I = fator de crescimento semelhante à insulina; Pref-1 = *preadipocyte factor 1*; IMG = índice de massa gorda; IMMA = índice de massa magra; FNIH = *Foundation for the National Institutes of Health*; AMO = adiposidade de medula óssea; SAT = tecido adiposo subcutâneo; VAT = tecido adiposo visceral; IHL = lipídeos intra-hepáticos; VAT/SAT = relação entre VAT e SAT
*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001

Tabela 16 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo, peptídeos de origem no tecido adiposo com densidade mineral óssea e TBS no estudo basal do grupo DC (n=16)

Parâmetro	Coluna lombar	Vértebra L3	Quadril total	Colo do fêmur	Antebraço total	Terço do rádio	Corpo total	TBS L1-L4	TBS L3
Idade	-0,3	-0,3	-0,1	-0,2	0,2	0,2	0,3	0,0	0,0
Peso	0,4	0,3	0,8****	0,8****	0,1	0,0	0,6*	-0,4	-0,4
IMC	0,5*	0,4	0,8***	0,8****	0,0	0,0	0,6*	-0,4	-0,4
CA	0,2	0,1	0,6*	0,7**	0,0	0,0	0,4	-0,4	-0,4
Glicemia	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5*	0,2	0,2	0,1
Insulina	0,2	0,0	0,3	0,1	0,0	-0,1	0,2	-0,4	-0,4
HOMA-IR	0,3	0,1	0,3	0,2	0,0	0,2	0,3	-0,2	-0,2
HbA1c	0,4	0,5	0,4	0,3	0,1	0,7*	0,4	0,2	0,2
FA	0,4	0,4	0,0	0,0	-0,4	-0,5	-0,2	-0,3	-0,4
IGF-I	0,0	-0,1	0,0	0,0	-0,2	-0,4	-0,2	0,0	0,0
Osteocalcina	-0,3	-0,3	-0,4	-0,3	-0,4	-0,2	-0,4	0,1	0,1
Leptina	0,0	0,0	0,5	0,3	0,1	-0,1	0,5	-0,4	-0,4
Adiponectina	0,3	0,3	0,1	0,1	-0,2	-0,2	0,0	0,4	0,5
Pref-1	0,0	0,2	0,1	0,3	-0,1	0,1	0,1	0,0	-0,1

Nota: TBS = *Trabecular bone score*; IMC = índice de massa corporal; CA = circunferência abdominal; EAC = escore de atividade clínica; HOMA-IR = *Homeostatic model assessment - insulin resistance*; HbA1c = hemoglobina glicosilada; FA = fosfatase alcalina; IGF-I = fator de crescimento semelhante à insulina; Pref-1 = *preadipocyte factor 1;* TBS L1-L4 = *Trabecular bone score* de coluna lombar; TBS L3 = *Trabecular bone score* de terceira vértebra lombar
*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001

Tabela 17 - Valores (r) da correlação entre medidas de adiposidade obtidas através de composição corporal por DXA e por RM com densidade mineral óssea e TBS no estudo basal do grupo DC (n=16)

Parâmetro	Coluna lombar	Vértebra L3	Quadril total	Colo do fêmur	Antebraço total	Terço do rádio	Corpo total	TBS L1-L4	TBS L3
IMG	0,4	0,3	0,7**	0,7**	-0,1	-0,1	0,4	-0,4	-0,3
IMMA									
Baumgartner	0,3	0,1	0,6*	0,5*	0,0	-0,1	0,4	-0,5	-0,6*
FNIH	-0,1	-0,3	0,0	-0,1	0,1	0,0	0,0	-0,2	-0,4
AMO	-0,4	-0,3	-0,4	-0,4	0,1	0,2	0,0	-0,3	-0,2
SAT	0,6	0,3	0,8**	0,9***	-0,2	-0,1	0,4	-0,4	-0,5
VAT	0,5	0,4	0,7*	0,6	0,0	0,2	0,6*	-0,3	-0,4
IHL	0,7**	0,7*	0,5	0,4	0,0	0,1	0,1	-0,3	-0,5
VAT/SAT	0,1	0,2	-0,2	-0,2	-0,1	0,2	0,1	0,2	0,1

Nota: DXA = *dual-energy X-ray absorciometry*; RM = ressonância magnética; TBS = *Trabecular bone score*; IMG = índice de massa gorda; IMMA = índice de massa magra; FNIH = *Foundation for the National Institutes of Health*; AMO = adiposidade de medula óssea de terceira vértebra lombar; SAT = tecido adiposo subcutâneo; VAT = tecido adiposo visceral; IHL = lipídeos intra-hepáticos; VAT/SAT = relação entre VAT e SAT; TBS L1-L4 = *Trabecular bone score* de coluna lombar; TBS L3 = *Trabecular bone score* de terceira vértebra lombar
*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001

Estudo prospectivo – resultados

Características clínicas

Os dados referentes a sexo, idade, peso, altura e IMC dos períodos Pré-op, 6º mês PO e 12º mês PO estão apresentadas nos Anexo 4, Anexo 5 e Anexo 6, respectivamente. A Tabela 18 exibe, exclusivamente, os valores de médias e DP da caracterização clínica dos períodos estudados.

Após a cirurgia, observamos redução no 6º mês PO seguido de estabilização no 12º mês PO dos seguintes parâmetros: peso (Pré-op= 83,8 ± 17,8, 6º mês PO= 74,1 ± 19,4, 12º mês PO= 76,4 ± 18,1Kg, $p<0,05$), IMC (Pré-op= 32,2 ± 6,3, 6º mês PO= 28,6 ± 7,2, 12º mês PO= 29,2 ± 6,6Kg/m², $p<0,05$) e EAC da DC (Pré-op= 8 ± 2, 6º mês PO= 3 ± 2, 12º mês PO= 4 ± 2, $p<0,05$).

Tabela 18 - Média e desvio-padrão da caracterização antropométrica dos indivíduos na avaliação prospectiva

	Pré-op (n=11)	**6° mês PO (n=10)**	**12º mês PO (n=10)**
Altura (m)	1,61±0,05	1,61±0,05	1,61±0,05
Peso (kg)	83,8±17,8	74,1±19,4‡	76,4±18,1¶
Índice de massa corporal (kg/m^2)	32,2±6,3	28,6±7,2‡	29,2±6,6¶
Escore de atividade clínica	8±2	3±2‡	4±2¶

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório
¶ significa diferença entre o grupo 12º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, $p<0,05$
‡ significa diferença entre o grupo 6º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, $p<0,05$

Parâmetros bioquímicos

Os resultados referentes às dosagens bioquímicas dos grupos estão descritos na Tabela 19. Houve melhora de parâmetros bioquímicos dos pacientes com DC em remissão pós-cirúrgica, tanto no sexto quanto no décimo segundo mês pós-operatório: glicemia (Pré-op= 134,7 ± 62,8, 6º mês PO= 96,5 ± 29,6, 12º mês PO= 90,5 ± 26,4mg/dL, p<0,05), insulinemia (Pré-op= 33,0 ± 24,9, 6º mês PO= 13,4 ± 11,6, 12º mês PO= 16,6 ± 13,6µUI/mL, p<0,05), HOMA-IR (Pré-op= 10,84 ± 8,86, 6º mês PO= 3,21 ± 2,77, 12º mês PO= 3,70 ± 3,87, p<0,05), 25(OH)D (Pré-op= 15,6 ± 7,0, 6º mês PO= 22,2 ± 6,1, 12º mês PO= 25,1 ± 7,1ng/mL, p<0,05), osteocalcina sérica (Pré-op= 3,35 ±1,56, 6º mês PO= 9,45 ± 6,11, 12º mês PO= 8,98 ± 7,54ng/mL, p<0,05) e deoxipiridinolina urinária (Pré-op= 6,06 ± 3,36, 6º mês PO= 13,36 ± 4,15, 12º mês PO= 12,60 ± 7,70nmol/mmol, p<0,05) (Figura 32, Figura 33, Figura 34, Figura 35, Figura 36, Figura 37).

As pacientes no 6º mês PO em relação ao Pré-op apresentaram menores valores de HbA1c (Pré-op= 7,8 ± 1,8, 6º mês PO= 6,3 ± 0,9, 12º mês PO= 6,5 ± 1,1%, p<0,05) e leptina sérica (Pré-op= 60,1 ± 29,8, 6º mês PO= 31,0 ± 23,1, 12º mês PO= 49,7 ± 27,5ng/mL, p<0,05) (Figura 38, Figura 39).

Finalmente, não houve diferenças entre o Pré-op, 6º mês PO e 12º mês PO em relação aos níveis de albumina, cálcio total, cálcio iônico, fósforo inorgânico, magnésio, fosfatase alcalina, calciúria e creatinina. O IGF-I não apresentou diferença no seguimento (Pré-op= 204± 90,6, 6º mês PO= 168,2 ± 42,8, 12º mês PO= 152,1 ± 55,0ng/dL). Também não observamos diferença do PTH no seguimento (Pré-op= 26,3 ± 13,5, 6º mês PO= 34,4 ± 25,8, 12º mês PO= 36,4 ± 16,3pg/mL). A adiponectina também não diferiu entre os períodos do estudo (Pré-op= 13,7 ± 9,1, 6º mês PO= 13,1 ± 8,1, 12º mês PO= 16,9 ± 8,4ng/mL). Finalmente, o Pref-1 não mostrou diferença significativa entre os períodos estudados (Pré-op= 41,7 ± 47,9, 6º mês PO= 38,3 ± 29,6, 12º mês PO= 22,1 ± 19,8ng/mL).

Com relação aos níveis séricos de 25(OH)D, quando utilizado os critérios do IOM, ilustrado na Tabela 20, a prevalência de baixos níveis de vitamina D foi de 72,7% no período Pré-op (n=08), 30,0% no 6º mês PO (n=10) e 30,0% no 12º mês PO (n=10) (*Institute of Medicine*, 2011). Quando utilizado os critérios da ESCPG, ilustrado na Tabela 21, a prevalência de baixos níveis de vitamina D foi de 90,9% no período Pré-op (n=10), 90,0% no 6º mês PO (n=09) e 80,0% no 12º mês PO (n=08) (Holick *et al.*, 2011).

Tabela 19 - Resultados dos exames bioquímicos dos grupos na avaliação prospectiva

	Pré-op (n=11)	6º mês PO (n=10)	12º mês PO (n=10)
Glicemia (mg/dL)	134,7 ± 62,8	96,5 ± 29,6‡	90,5 ± 26,4¶
Insulinemia (uUI/mL)	33,0 ± 24,9	13,4 ± 11,6‡	16,6 ± 13,6¶
HOMA-IR	10,84 ± 8,86	3,21 ± 2,77‡	3,70 ± 3,87¶
HbA1c (%)	7,8 ± 1,8	6,3 ± 0,9‡	6,5 ± 1,1
Albumina (g/dL)	4,4 ± 0,2	4,2 ± 0,2	4,3 ± 0,2
Cálcio total (mg/mL)	9,8 ± 0,6	9,7 ± 0,4	9,8 ± 0,2
Cálcio iônico (mmol/L)	1,17 ± 0,08	1,16 ± 0,07	1,12 ± 0,06
Fósforo inorgânico (mg/dL)	3,8 ± 0,8	3,8 ± 0,3	3,8 ± 0,6
Magnésio (m€q/L)	1,68 ± 0,13	1,61 ± 0,15	1,68 ± 0,09
Fosfatase alcalina (U/L)	192,6 ± 42,3	199,1 ± 94,9	230,5 ± 119,2
Calciúria (mg/24h)	137,9 ± 61,2	141,2 ± 101,0	117,2 ± 51,1
Creatinina (mg/dL)	0,88 ± 0,31	0,85 ± 0,24	0,87 ± 0,28
IGF-I (ng/dL)	204,0 ± 90,6	168,2 ± 42,8	152,1 ± 55,0
25(OH)D (ng/mL)	15,6 ± 7,0	22,2 ± 6,1‡	25,1 ± 7,1¶
PTH (pg/mL)	26,3 ± 13,5	34,4 ± 25,8	36,4 ± 16,3
Osteocalcina (ng/mL)	3,35 ± 1,56	9,45 ± 6,11‡	8,98 ± 7,54¶
Deoxipiridinolina (nmol/mmol)	6,06 ± 3,36	13,36 ± 4,15‡	12,60 ± 7,70¶
Adiponectina (ng/mL)	13,7 ± 9,1	13,1 ± 8,0	16,9 ± 8,4
Leptina (ng/mL)	60,1 ± 29,8	31,0 ± 23,1‡	49,7 ± 27,5
Pref-1 (ng/mL)	41,7 ± 47,9	38,3 ± 29,6	22,1 ± 19,8

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório; HOMA-IR = *Homeostatic model assessment – insulin resistance*; HbA1c = hemoglobina glicosilada; IGF-I = fator de crescimento semelhante à insulina tipo I, 25(OH)D = 25-hidroxivitamina D; PTH = paratormônio; Pref-1 = *Preadipocyte factor 1*

¶ significa diferença entre o grupo 12º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, $p<0,05$

‡ significa diferença entre o grupo 6º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, $p<0,05$

Tabela 20 – Classificação dos níveis de 25-hidroxivitamina D nos grupos de acordo com o IOM na avaliação prospectiva

25(OH)D	Pré-op (n=11)	6º mês PO (n=10)	12º mês PO (n=10)
Normal (≥20ng/mL)	3 (27,3%)	7 (70%)	7 (70%)
Deficiente (<20ng/mL)	8 (72,7%)	3 (30%)	3 (30%)

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório; IOM = *Institute of Medicine*

Tabela 21 – Classificação dos níveis de 25-hidroxivitamina D nos grupos de acordo com a ESCPG na avaliação prospectiva

25(OH)D	Pré-op (n=11)	6º mês PO (n=10)	12º mês PO (n=10)
Desejável (≥30ng/mL)	1 (9,1%)	1 (10%)	2 (20%)
Insuficiente (20-29ng/mL)	2 (18,2%)	6 (60%)	5 (50%)
Deficiente (<20ng/mL)	8 (72,7%)	3 (30%)	3 (30%)

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório; ESCPG = *Endocrine Society Clinical Practice Guideline*

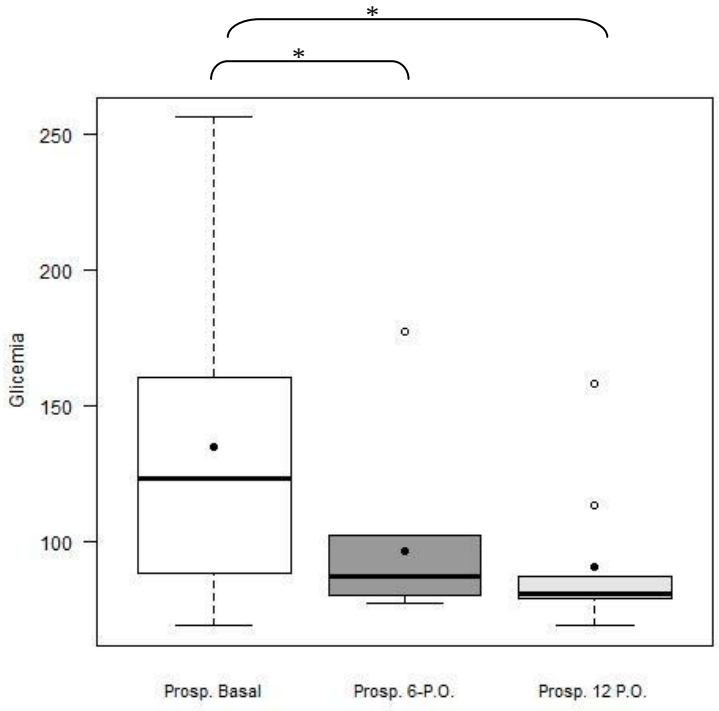

Figura 32 – O gráfico mostra os resultados de glicose sérica (mg/dL) dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

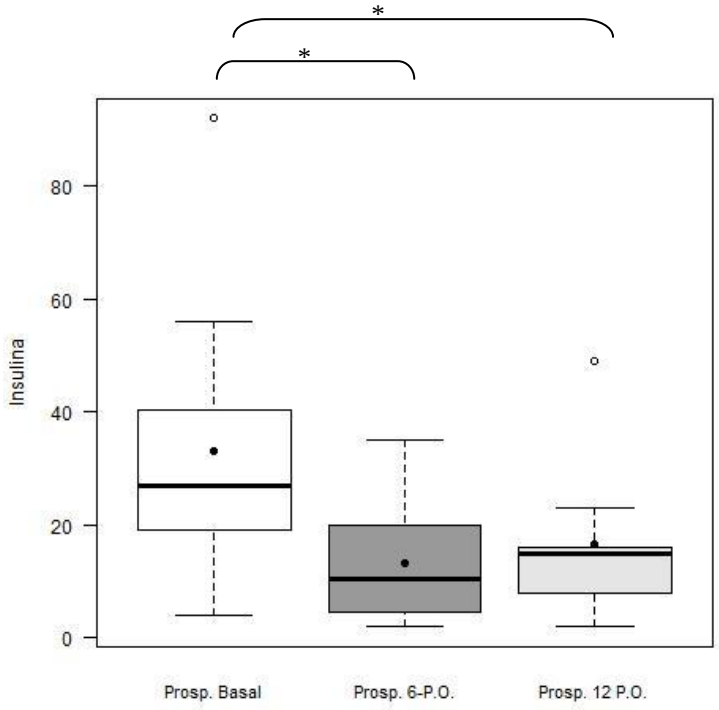

Figura 33 – O gráfico mostra os resultados de insulina sérica (µUI/mL) dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

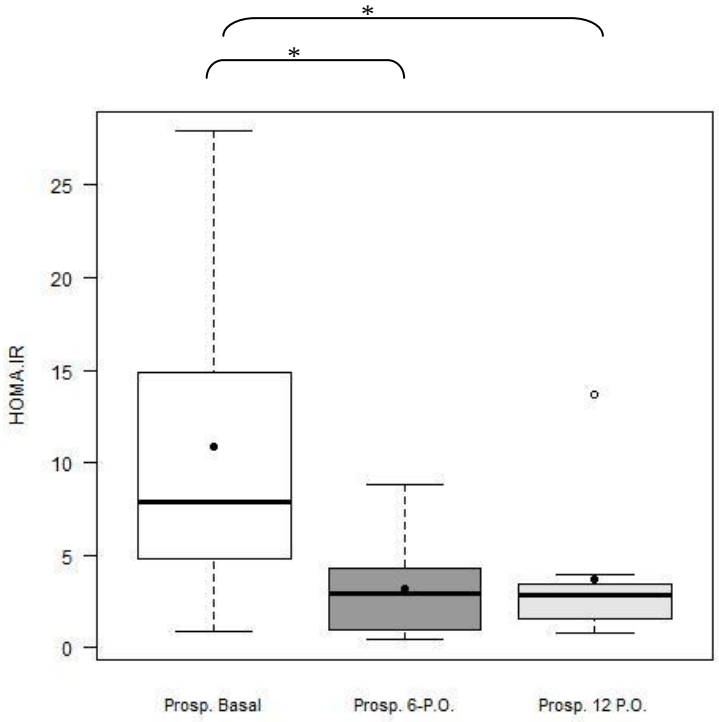

Figura 34 – O gráfico mostra os resultados de HOMA-IR dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05
HOMA-IR: *Homeostatic model assessment – insulin resistance*

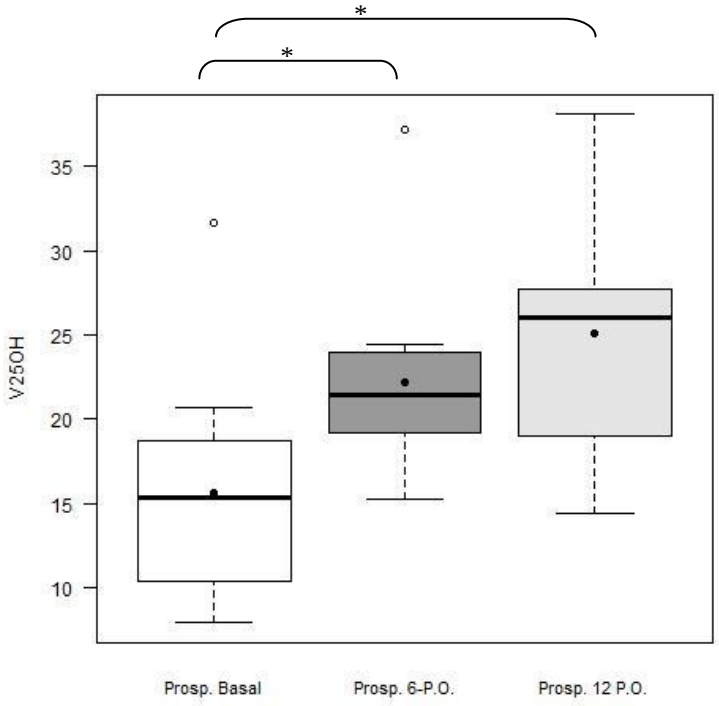

Figura 35 – O gráfico mostra os resultados de 25-hidroxivitamina D sérica (ng/mL) dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

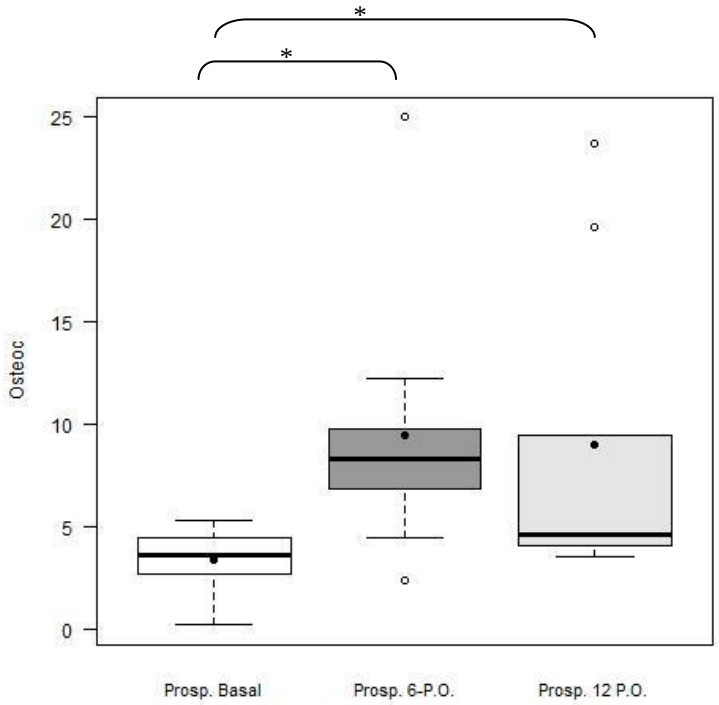

Figura 36 – O gráfico mostra os resultados de osteocalcina sérica (ng/mL) dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

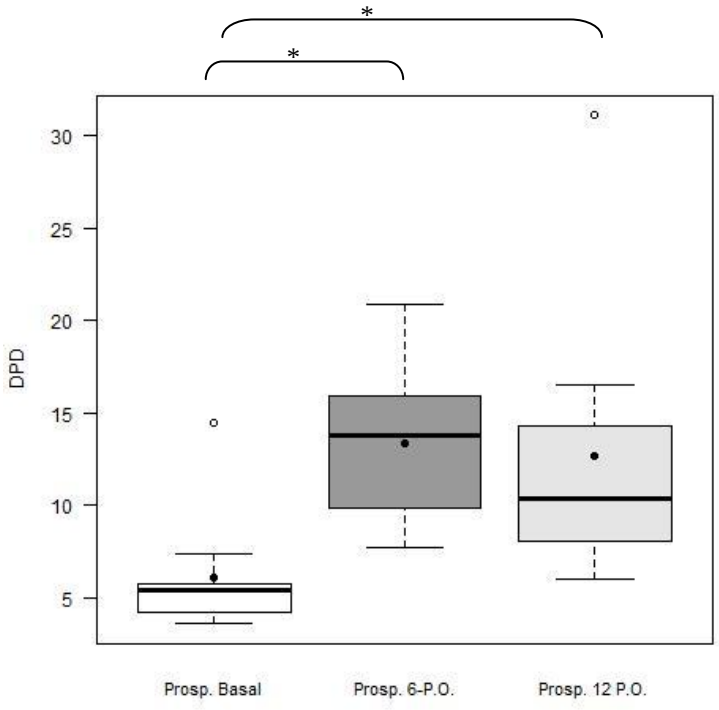

Figura 37 – O gráfico mostra os resultados de deoxipiridinolina urinária (nmol/mmol) dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

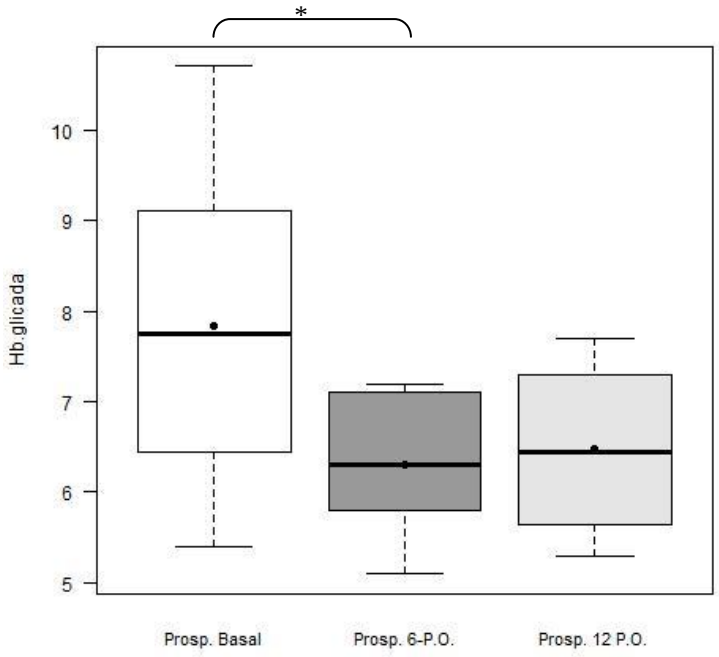

Figura 38 – O gráfico mostra os resultados de hemoglobina glicosilada (%) dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

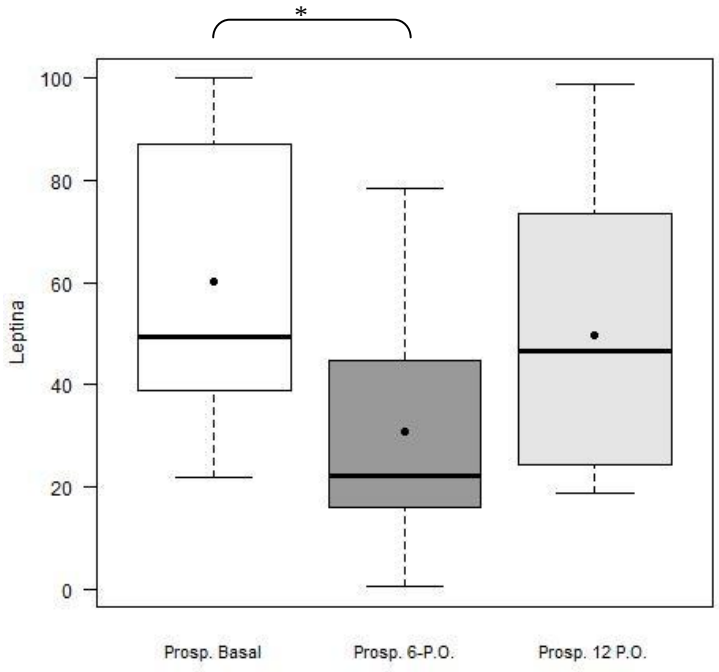

Figura 39 – O gráfico mostra os resultados de leptina sérica (ng/mL) dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

Teste oral de tolerância à glicose (GTT)

Com relação aos resultados obtidos pelo GTT, listados nas Tabela 22 e Tabela 23, observamos que tanto no 6º mês PO e 12º mês PO em relação ao Pré-op a glicemia foi menor nos indivíduos no tempo zero (Pré-op= 132 ± 57, 6º mês PO= 98 ± 31, 12º mês PO= 83 ± 12mg/dL, p<0,05), +30min (Pré-op= 225 ± 73, 6º mês PO= 160 ± 42, 12º mês PO= 153 ± 32mg/dL, p<0,05), +60min (Pré-op= 273 ± 90, 6º mês PO= 200 ± 66, 12º mês PO= 167 ± 56mg/dL, p<0,05), +90min (Pré-op= 275 ± 109, 6º mês PO= 181 ± 86, 12º mês PO= 155 ± 67mg/dL, p<0,05) e +120min (Pré-op= 270 ± 115, 6º mês PO= 155 ± 71, 12º mês PO= 135 ± 71mg/dL, p<0,05), a insulinemia foi menor no tempo zero (Pré-op= 32 ± 27, 6º mês PO= 15 ± 11, 12º mês PO= 18 ± 13µIU/mL, p<0,05) e a osteocalcina sérica foi maior no tempo zero (Pré-op= 3,3 ± 1,6, 6º mês PO= 9,5 ± 6,5, 12º mês PO= 9,0 ± 7,5ng/mL, p<0,05), +30min (Pré-op= 3,3 ± 1,5, 6º mês PO= 9,6 ± 8,3, 12º mês PO= 9,2 ± 6,7ng/mL, p<0,05), +60min (Pré-op= 3,2 ± 1,8, 6º mês PO= 9,0 ± 6,9, 12º mês PO= 10,6 ± 8,9ng/mL, p<0,05), +90min (Pré-op= 3,3 ± 1,4, 6º mês PO= 9,5 ± 7,9, 12º mês PO= 9,4 ± 8,6ng/mL, p<0,05) e +120min

(Pré-op= 3,3 ± 2,0, 6º mês PO= 9,9 ± 7,9, 12º mês PO= 9,7 ± 8,5ng/mL, p<0,05). Não houve diferenças dos níveis séricos de insulina entre os períodos Pré-op, 6º mês PO e 12º mês PO no tempo +30min (Pré-op= 140 ± 210, 6º mês PO= 65 ± 47, 12º mês PO= 191 ± 328µIU/mL), +60min (Pré-op= 204 ± 287, 6º mês PO= 110 ± 77, 12º mês PO= 286 ± 494µIU/mL), +90min (Pré-op= 181 ± 207, 6º mês PO= 121 ± 89, 12º mês PO= 170 ± 185µIU/mL) e +120min (Pré-op= 156 ± 147, 6º mês PO= 116 ± 99, 12º mês PO= 103 ± 70µIU/mL).

A área sob a curva (AUC) da glicose foi menor nos indivíduos tanto do 6º mês PO quanto do 12º mês PO em relação ao período Pré-op (Pré-op= 29.263,00 ± 1.0051,68, 6º mês PO=20.040,00 ± 7.104,89, 12º mês PO=17.555,00 ± 5.131,00min.mg.dL^{-1}, p<0,05). Tal diferença se manteve mesmo quando se ajustou a análise para AUC acima do basal (Pré-op=13.486,67 ± 4.404,67, 6º mês PO=8.370,56 ± 3.916,35, 12º mês PO=7.597,33 ± 4.033,02min.mg.dL^{-1}, p<0,05) (Figura 40). Em relação à AUC da osteocalcina, observamos maiores valores tanto nos períodos do 6º mês PO quanto do 12º mês PO em relação ao Pré-op (Pré-op=396,37 ± 189,38, 6º mês PO=1.129,83 ± 899,06, 12º mês PO=1.152,23 ± 958,40min.ng.mL^{-1}, p<0,05) (Figura 42). Não observamos diferenças entre os três períodos com relação à AUC da insulina (Pré-op=18.556,67 ± 22.789,97, 6º mês PO=10.842,86 ± 7.766,91, 12º mês PO=21.236,25 ± 3.0491,66min.µUI.mL^{-1}), mesmo quando se ajustou a análise para a AUC acima do basal (Pré-op=14.716,67 ± 21.794,91, 6º mês PO=9.042,86 ± 6.408,98, 12º mês PO=19.033,50 ± 30.165,75min.µUI.mL^{-1}) (Figura 41).

Cabe salientar que das onze pacientes, uma não foi submetida ao GTT por tratar-se de DM 1. Entre as dez paciente avaliadas, sete tinham diagnóstico de *diabetes mellitus* e duas tinham diagnóstico de intolerância à glicose no GTT realizado no período Pré-op. Na reavaliação do 6º mês PO e 12º mês PO, das sete pacientes com diagnóstico de *diabetes mellitus*, uma permaneceu com intolerância à glicose e as três restantes tiveram resposta normal ao GTT. Ambas pacientes com intolerância à glicose no período Pré-op, quando reavaliadas no 6º mês PO e 12º mês PO tiveram resposta normal ao GTT.

Tabela 22 – Resultados em média e desvio-padrão da glicemia, insulinemia e osteocalcina sérica durante os diversos tempos no teste oral de tolerância à glicose (GTT)

	zero	+30min	+60min	+90min	+120min
Glicemia (mg/dl)					
Pré-op (n=9)	132±57	226±73	273±90	275±109	270±115
6º mês PO (n=9)	98±31‡	160±42‡	200±66‡	181±86‡	155±71‡
12º mês PO (n=9)	83±12¶	153±32¶	167±56¶	155±67¶	135±71¶
Insulinemia (µIU/mL)					
Pré-op (n=9)	32±27	140±210	204±287	181±207	156±147
6º mês PO (n=7)	15±11‡	65±47	110±77	121±89	116±99
12º mês PO (n=8)	18±13¶	191±328	286±494	170±185	103±70
Osteocalcina sérica (ng/mL)					
Pré-op (n=10)	3,3±1,6	3,3±1,5	3,2±1,8	3,3±1,4	3,3±2,0
6º mês PO (n=9)	9,5±6,5‡	9,6±8,3‡	9,0±6,9‡	9,5±7,9‡	9,9±7,9‡
12º mês PO (n=9)	9,0±7,5¶	9,2±6,7¶	10,6±8,9¶	9,4±8,6¶	9,7±8,5¶

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório

¶ significa diferença entre o grupo 12º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, $p<0,05$

‡ significa diferença entre o grupo 6º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, $p<0,05$

Tabela 23 - Resultados da área sob a curva de glicemia, de insulina e de osteocalcina para os grupos na avaliação prospectiva

	Pré-op (n=9)	6º mês PO (n=9)	12º mês PO (n=9)
Curva glicêmica			
AUC (min . mg . dL^{-1})	29.263,00 ± 10.051,68	20.040,00 ±7.104,89‡	17.555,00 ± 5.131,00¶
AUC acima do basal (min . mg . dL^{-1})	13.486,67 ± 4.404,67	8.370,56 ± 3.916,35‡	7.597,33 ± 4.033,02¶
Curva insulinêmica			
AUC (min . µUI . mL^{-1})	18.556,67 ± 22.789,97	10.842,86 ± 7.766,91	21.236,25 ± 30.491,66
AUC acima do basal (min . µUI . mL^{-1})	14.716,67 ± 21.794,91	9.042,86 ± 6.408,98	19.033,50 ± 30.165,75
Curva de osteocalcina			
AUC (min . ng . mL^{-1})	396,37 ± 189,38	1.129,83 ± 899,06‡	1.152,23 ± 958,40¶
AUC acima do basal (min . ng . mL^{-1})	-	-	-

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório; AUC = área sob a curva

¶ significa diferença entre o grupo 12º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, $p<0,05$

‡ significa diferença entre o grupo 6º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, $p<0,05$

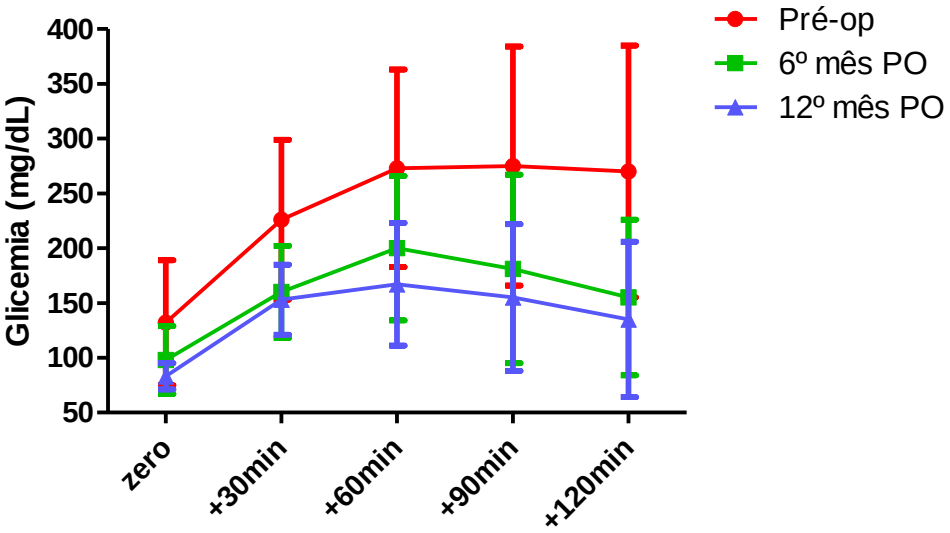

Figura 40 – O gráfico mostra as curvas de glicemia (mg/dL) durante o teste oral de tolerância à glicose

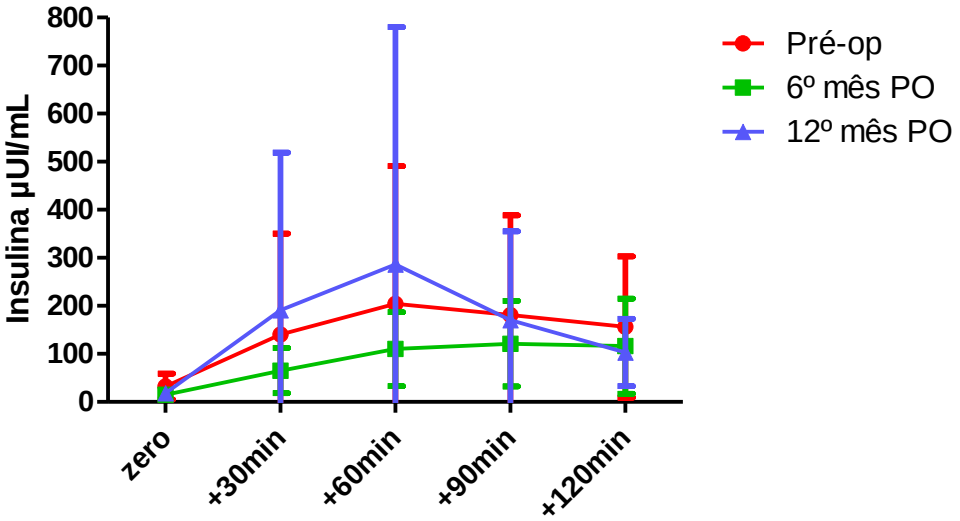

Figura 41 – O gráfico mostra as curvas de insulina (µUI/mL) durante o teste oral de tolerância à glicose

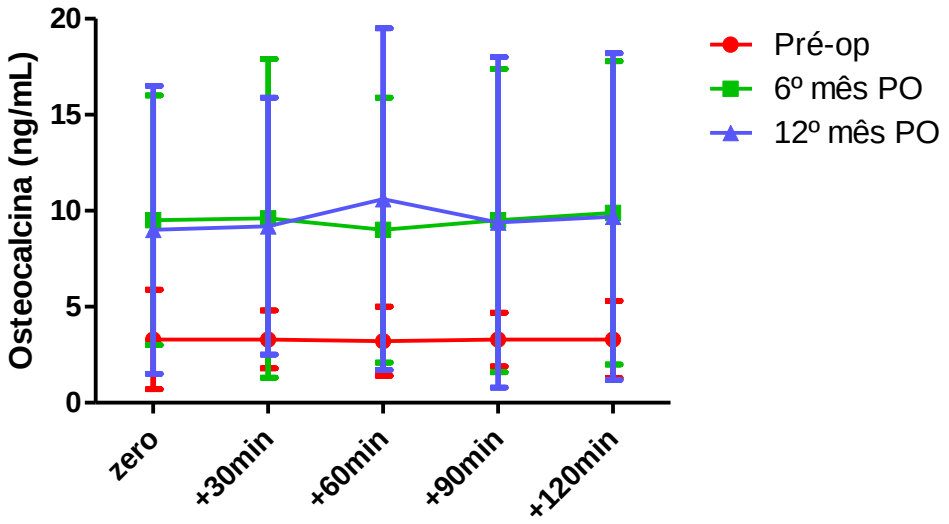

Figura 42 – O gráfico mostra as curvas de osteocalcina (ng/mL) durante o teste oral de tolerância à glicose

Densitometria óssea

Na Tabela 24, observamos que na avaliação de DMO, os indivíduos no 12º mês PO apresentaram menor DMO em antebraço total em relação aos indivíduos nos Pré-op e 6º mês PO (Pré-op=0,560 ± 0,045, 6º mês PO=0,563 ± 0,048, 12º mês PO=0,553 ± 0,040g/cm², $p<0,05$), ilustrado na Figura 46. Não houve diferenças destes indivíduos entre o período Pré-op, 6º mês PO e 12º mês PO quando comparados a DMO dos sítios de coluna lombar (Pré-op=0,937 ± 0,087, 6º mês PO=0,940 ± 0,098, 12º mês PO=0,943 ± 0,097g/cm²), vértebra L3 (Pré-op=0,955 ± 0,104, 6º mês PO=0,964 ± 0,114, 12º mês PO=0,981 ± 0,118g/cm²), quadril total (Pré-op=0,887 ± 0,119, 6º mês PO=0,898 ± 0,131, 12º mês PO=0,884 ± 0,128g/cm²), colo do fêmur (Pré-op=0,786 ± 0,117, 6º mês PO=0,779 ± 0,116, 12º mês PO=0,781 ± 0,135g/cm²), terço de rádio (Pré-op=0,665 ± 0,052, 6º mês PO=0,659 ± 0,054, 12º mês PO=0,659 ± 0,035g/cm²) e corpo total (Pré-op=1,065 ± 0,091, 6º mês PO=1,095 ± 0,086, 12º mês PO=1,100 ± 0,102g/cm²), ilustrado na Figura 43, Figura 44, Figura 45, Figura 47 e Figura 48.

A Tabela 25 mostra a classificação segundo o Z-score dos indivíduos nos períodos Pré-op, 6º mês PO e 12º mês PO. Observamos que a prevalência de baixa massa óssea foi de 18,2% no Pré-op (n=02), 30% no 6º mês PO (n=03) e 14,3% no 12º mês PO (n=01). Durante os três períodos, observamos que apenas um indivíduo apresentou massa óssea elevada.

Tabela 24 - Resultados da densitometria óssea para os grupos na avaliação prospectiva

	Pré-op (n=11)	6º mês PO (n=10)	12º mês PO (n=7)
Coluna lombar			
DMO (g/cm²)	0,937 ± 0,087	0,940 ± 0,098	0,943 ± 0,097
Z-score	-0,8 ± 0,8	-0,7 ± 0,9	-0,6 ± 0,8
Vértebra L3			
DMO (g/cm²)	0,955 ± 0,104	0,964 ± 0,114	0,981 ± 0,118
Z-score	-0,9 ± 0,8	-0,9 ± 0,9	-0,6 ± 1,0
Quadril total			
DMO (g/cm²)	0,887 ± 0,119	0,898 ± 0,131	0,884 ± 0,128
Z-score	-0,3 ± 1,0	-0,2 ± 1,1	-0,3 ± 1,1
Colo do fêmur			
DMO (g/cm²)	0,786 ± 0,117	0,779 ± 0,116	0,781 ± 0,135
Z-score	-0,3 ± 1,1	-0,3 ± 1,1	-0,3 ± 1,2
Antebraço total			
DMO (g/cm²)	0,560 ± 0,045	0,563 ± 0,048	0,553 ± 0,040¶†
Z-score	0,0 ± 1,0	0,1 ± 1,0	-0,1 ± 0,9
1/3 do rádio			
DMO (g/cm²)	0,665 ± 0,052	0,659 ± 0,054	0,659 ± 0,035
Z-score	-0,1 ± 1,0	-0,1 ± 1,0	-0,2 ± 0,7
Corpo total			
DMO (g/cm²)	1,065 ± 0,091	1,095 ± 0,086	1,100 ± 0,102
Z-score	0,0 ± 1,2	0,4 ± 1,1	0,4 ± 1,3

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório; DMO = densidade mineral óssea
¶ significa diferença entre o grupo 12º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, $p<0,05$
† significa diferença entre o grupo 12º mês PO quando comparado ao grupo 6º mês PO, $p<0,05$

Tabela 25 - Resultados da classificação dos indivíduos segundo o Z-score na avaliação prospectiva

Z-score	Pré-op (n=11)	6º mês PO (n=10)	12º mês PO (n=7)
Massa óssea normal (> -2,0DP)	9 (91,8%)	7 (70%)	6 (85,7%)
Baixa massa óssea (≤ -2,0DP)	2 (18,2%)	3 (30%)	1 (14,3%)
Massa óssea elevada (≥ +2,0DP)	1 (9,1%)	1 (10%)	1 (10%)

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório; DP = desvio-padrão

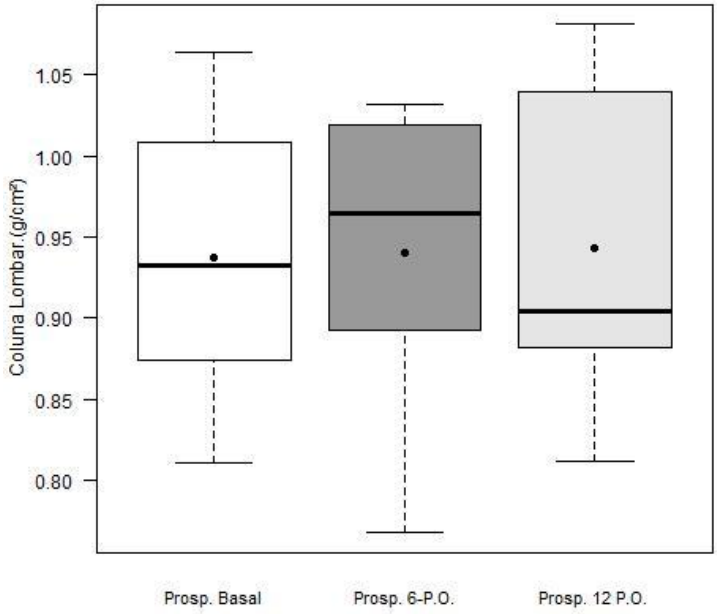

Figura 43 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de coluna lombar (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo

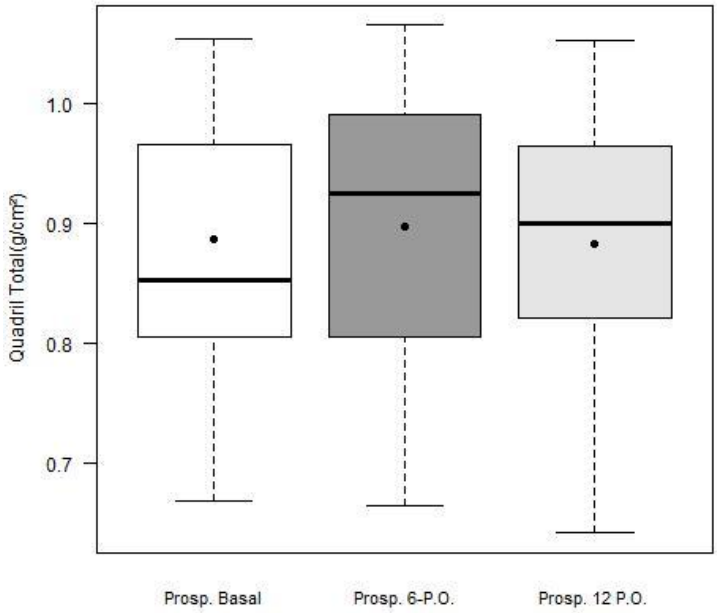

Figura 44 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de quadril total (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo

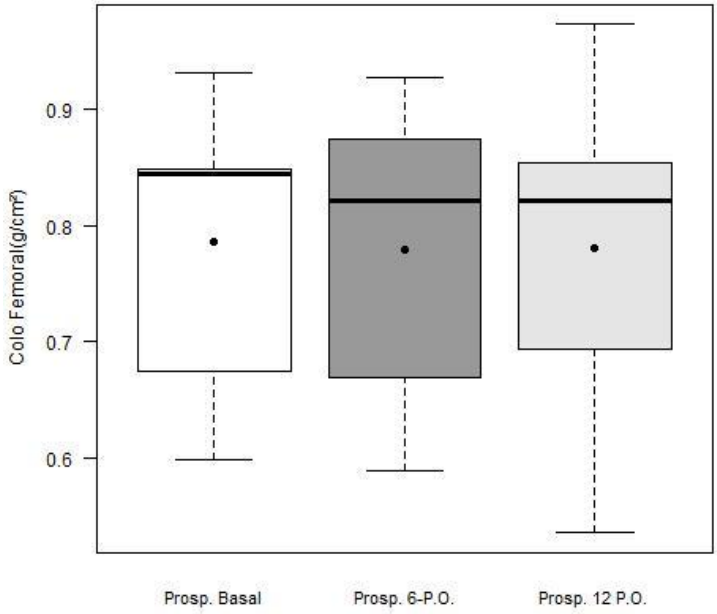

Figura 45 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de colo do fêmur (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo

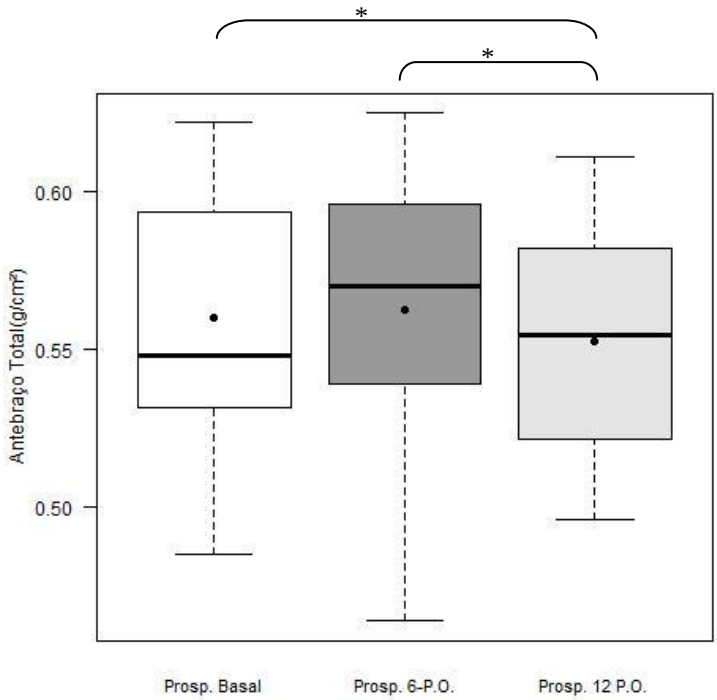

Figura 46 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de antebraço total (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, $p<0,05$

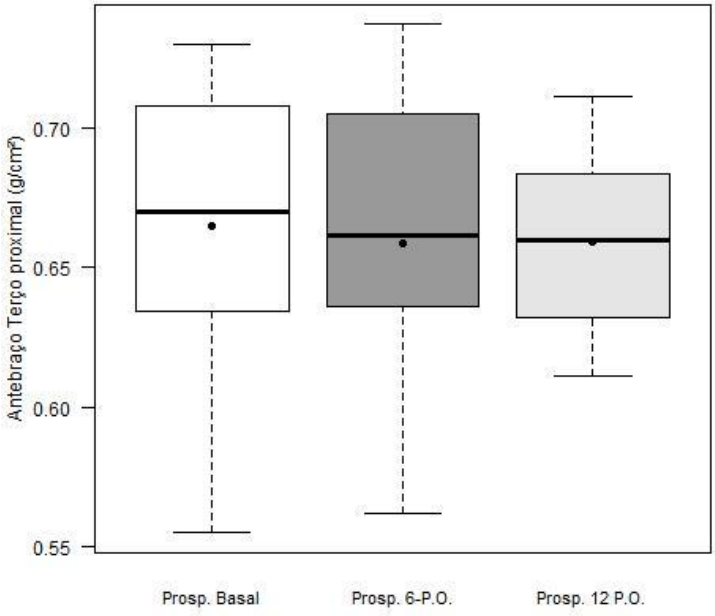

Figura 47 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de terço de rádio (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo

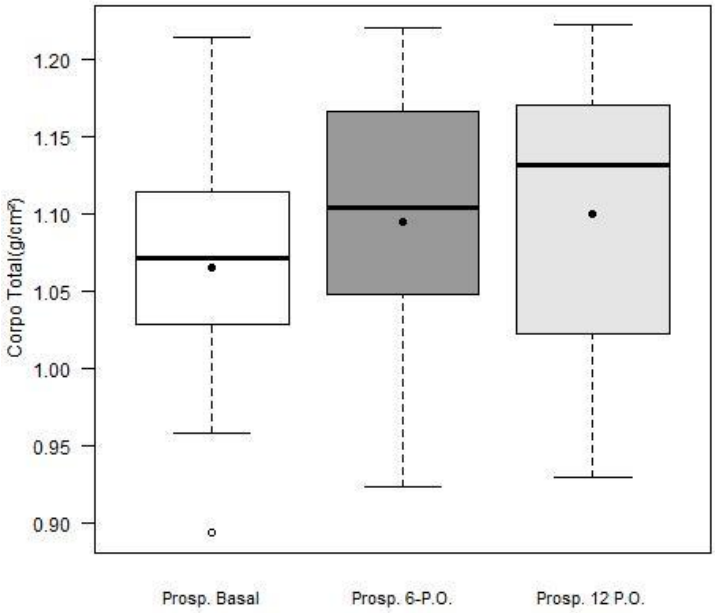

Figura 48 – O gráfico mostra os resultados de densidade mineral óssea de corpo total (g/cm²) dos indivíduos no estudo prospectivo

Em relação ao TBS, na avaliação prospectiva, representada na Tabela 26, não houve diferenças entre os grupos Pré-op, 6º mês PO e 12º mês PO nem quando comparado TBS de coluna lombar (Pré-op=1,247 ± 0,152, 6º mês PO= 1,304 ± 0,063, 12º mês PO= 1,305 ± 0,097) e nem quando comparado TBS apenas de L3 (Pré-op=1,288 ± 0,185, 6º mês PO= 1,345 ± 0,076, 12º mês PO= 1,386 ± 0,109), ilustrado na Figura 49. Na Análise de Fraturas Vertebrais (VFA), não foram observadas novas fraturas vertebrais durante a avaliação prospectiva.

Tabela 26 – Resultados de *Trabecular Bone Score* dos indivíduos na avaliação prospectiva

TBS	Pré-op (n=10)	6º mês PO (n=9)	12º mês PO (n=7)
Coluna lombar	1,247 ± 0,152	1,304 ± 0,063	1,305 ± 0,097
Vértebra L3	1,288 ± 0,185	1,345 ± 0,076	1,386 ± 0,109

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório; TBS = *Trabecular bone score*

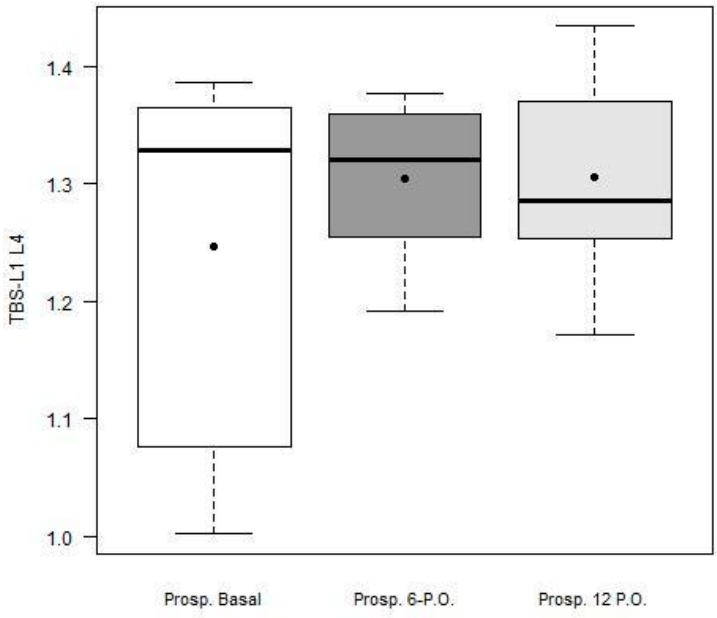

Figura 49 – O gráfico mostra os resultados de *trabecular bone score* de coluna lombar dos indivíduos no estudo prospectivo

Na avaliação de composição corporal por DXA para os indivíduos do estudo prospectivo (Tabela 27), observamos menores valores nos indivíduos no 6º mês PO e 12º mês PO em relação ao período Pré-op quando comparado massa gorda total (Pré-op=38,2 ± 12,9, 6º mês PO= 31,2 ± 11,6, 12º mês PO=29,5 ± 11,4Kg, $p< 0,05$), porcentagem de gordura corporal total (Pré-op=45,7 ± 8,4, 6º mês PO= 41,3 ± 6,9, 12º mês PO=35,9 ± 6,9%, $p< 0,05$) e IMG (Pré-op=14,67 ± 4,86, 6º mês PO=12,03 ± 4,47, 12º mês PO=11,50 ± 4,49Kg/m², $p< 0,05$) e maiores valores de IMMA pelos critérios do FNIH (Pré-op=0,513 ± 0,121 6º mês PO=0,567 ± 0,079, 12º mês PO=0,555 ± 0,098m², $p< 0,05$) (Kelly *et al.*, 2009; Mclean *et al.*, 2014). Não houve diferença entre a massa magra total (Pré-op=42,0 ± 9,2, 6º mês PO=40,4 ± 6,9, 12º mês PO=41,3 ± 9,8Kg), massa magra apendicular (Pré-op=16,4 ± 4,5, 6º mês PO=15,9 ± 3,4, 12º mês PO=16,0 ± 4,3Kg) ou do IMMA pelos critérios de Baumgartner (Pré-op=6,27 ± 1,50, 6º mês PO=6,13 ± 1,13, 12º mês PO=6,21 ± 1,49Kg/m²) durante o seguimento prospectivo (Baumgartner *et al.*, 1998). O gráfico de IMG e de IMMA está ilustrado na Figura 50, Figura 51 e Figura 52.

A Tabela 28 descreve a classificação dos indivíduos segundo a composição corporal por DXA (Baumgartner *et al.*, 1998; Kelly *et al.*, 2009; Mclean *et al.*, 2014). Nesta avaliação, observamos que dez indivíduos no Pré-op (90,9%) apresentavam excesso de gordura (27,3% sobrepeso, 45,4% obesidade grau I, 0% obesidade grau II e 18,2% obesidade grau III), enquanto apenas seis indivíduos no 6º mês PO (60%) apresentavam excesso de gordura (50% obesidade grau I, 10% obesidade grau II e 0% obesidade grau III) e cinco indivíduos no 12º mês PO (62,5%) apresentavam excesso de gordura (25% sobrepeso, 25% obesidade grau I, 12,5% obesidade grau II e 0% obesidade grau III). A prevalência de baixa massa magra, quando avaliado o IMMA pelos critérios de Baumgartner, foi de três indivíduos no Pré-op (27,3%), três indivíduos no 6º mês PO (30%) e dois indivíduos no 12º mês PO (25%). A prevalência de baixa massa magra, quando avaliado o IMMA pelos critérios do FNIH, foi de seis indivíduos no Pré-op (54,6%), dois indivíduos no 6º mês PO (20,0%) e três indivíduos no 12º PO (37,5%).

Tabela 27 - Resultados da composição corporal através de densitometria para os grupos na avaliação prospectiva

	Pré-op (n=11)	**6º mês PO (n=10)**	**12º mês PO (n=8)**
Massa gorda total (Kg)	38,2 ± 12,9	31,2 ± 11,6‡	29,5 ± 11,4¶
Massa magra total (Kg)	42,0 ± 9,2	40,4 ± 6,9	41,3 ± 9,8
Massa magra apendicular (Kg)	16,4 ± 4,5	15,9 ± 3,4	16,0 ± 4,3
Gordura corporal total (%)	45,7 ± 8,4	41,3 ± 6,9‡	39,5 ± 6,9¶
IMG (Kg/m²)	14,67 ± 4,86	12,03 ± 4,47‡	11,50 ± 4,49¶
IMMA			
Baumgartner (Kg/m²)	6,27 ± 1,50	6,13 ± 1,13	6,21 ± 1,49
FNIH (m²)	0,513 ± 0,121	0,567 ± 0,079‡	0,555 ± 0,098¶

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório; IMG = índice de massa gorda; IMMA = índice de massa magra apendicular; FNIH = *Foundation for the National Institutes of Health*

¶ significa diferença entre o grupo 12º mês PO quando comparado aos grupo pré-op, p<0,05

‡ significa diferença entre o grupo 6º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, p<0,05

Tabela 28 - Resultados da classificação dos indivíduos segundo a composição corporal por densitometria na avaliação prospectiva

	Pré-op (n=11)	6º mês PO (n=10)	12º mês PO (n=08)
IMG (Kg/m²)			
Eutrófico (5,0-9,0)	1 (9,1%)	4 (40%)	3 (37,5%)
Sobrepeso (9,1-13,0)	3 (27,3%)	-	2 (25%)
Obesidade grau I (13,1-17,0)	5 (45,4%)	5 (50%)	2 (25%)
Obesidade grau II (17,1-21,0)	-	1 (10%)	1 (12,5%)
Obesidade grau III (≥21,1)	2 (18,2%)	-	-
IMMA – Baumgartner (Kg/m²)			
Massa magra adequada (≥5,45)	8 (72,7%)	7 (70%)	6 (75%)
Baixa massa magra (<5,45)	3 (27,3%)	3 (30%)	2 (25%)
IMMA – FNIH (m²)			
Massa magra adequada (≥0,512)	5 (45,4%)	8 (80%)	5 (62,5%)
Baixa massa magra (<0,512)	6 (54,6%)	2 (20%)	3 (37,5%)

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório; IMG = índice de massa gorda; IMMA = índice de massa magra apendicular; FNIH = *Foundation for the National Institutes of Health*

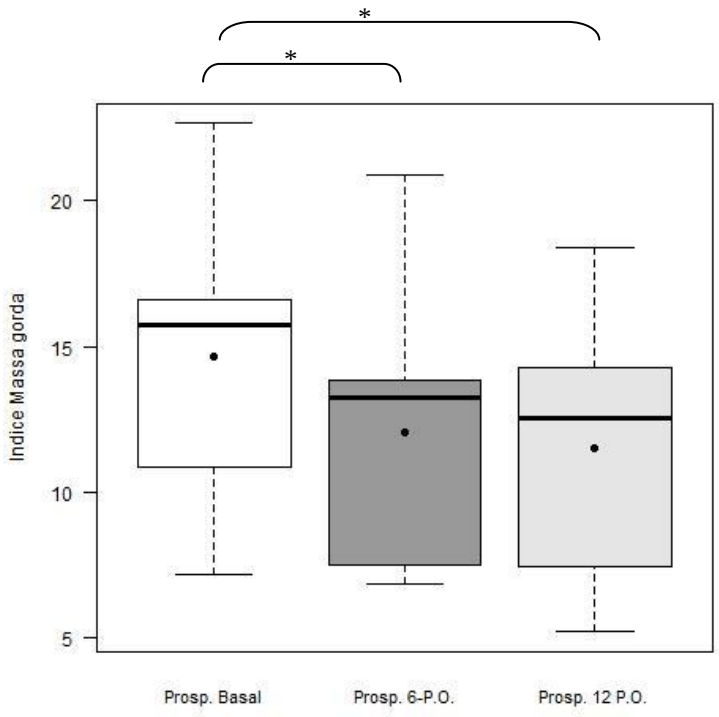

Figura 50 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa gorda (Kg/m²) obtidos por composição corporal dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

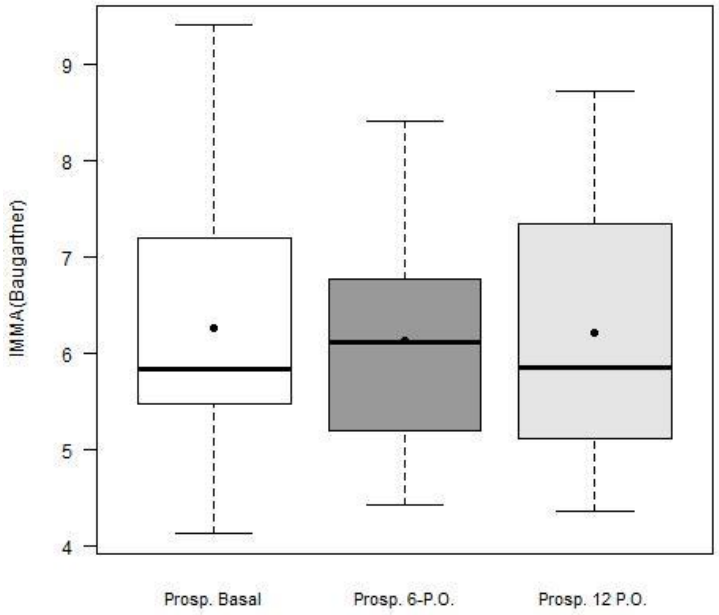

Figura 51 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa magra apendicular (Kg/m²) obtidos por composição corporal pelos critérios de Baumgartner dos indivíduos no estudo prospectivo

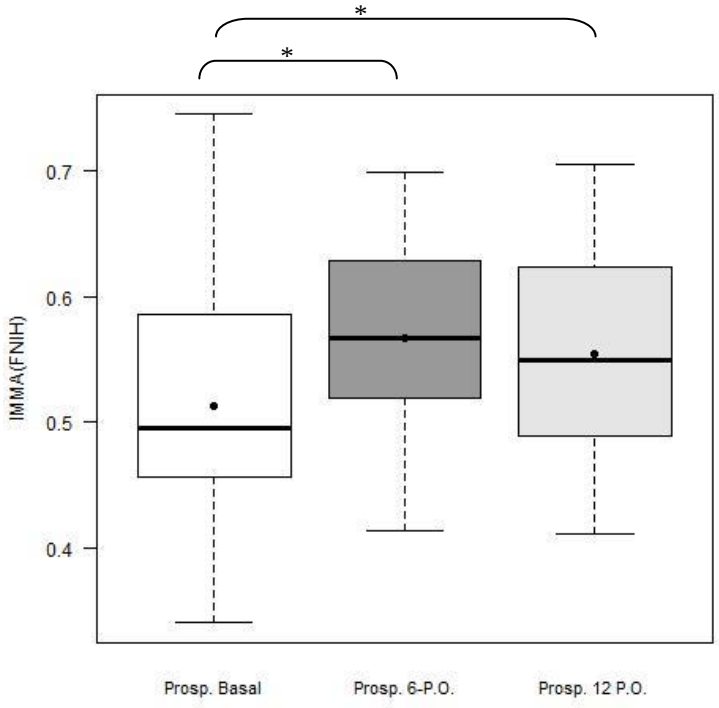

Figura 52 – O gráfico mostra os resultados do índice de massa magra apendicular (m²) obtidos por composição corporal pelos critérios do FNIH dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

Ressonância magnética

A Tabela 29 ilustra os resultados obtidos por MRS de prótons em L3 dos indivíduos nos períodos estudados. Nesta avaliação, os indivíduos no 6º mês PO e 12º mês PO apresentaram redução da AMO de L3 quando comparados ao período Pré-op (Pré-op=38,71 ± 8,98, 6º mês PO=29,42 ± 8,88, 12º mês PO=28,77 ± 8,97%, p<0,05) (Figura 53).

Tabela 29 - Resultados de espectroscopia de prótons por ressonância magnética em coluna lombar na avaliação prospectiva

	Pré-op (n=10)	6º mês PO (n=7)	12º mês (n=6)
AMO de L3 (%)	38,71 ± 8,98	29,42 ± 8,88‡	28,77 ± 8,97¶

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório; AMO de L3 = adiposidade de medula óssea de terceira vértebra lombar
¶ significa diferença entre o grupo 12º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, p<0,05
‡ significa diferença entre o grupo 6º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, p<0,05

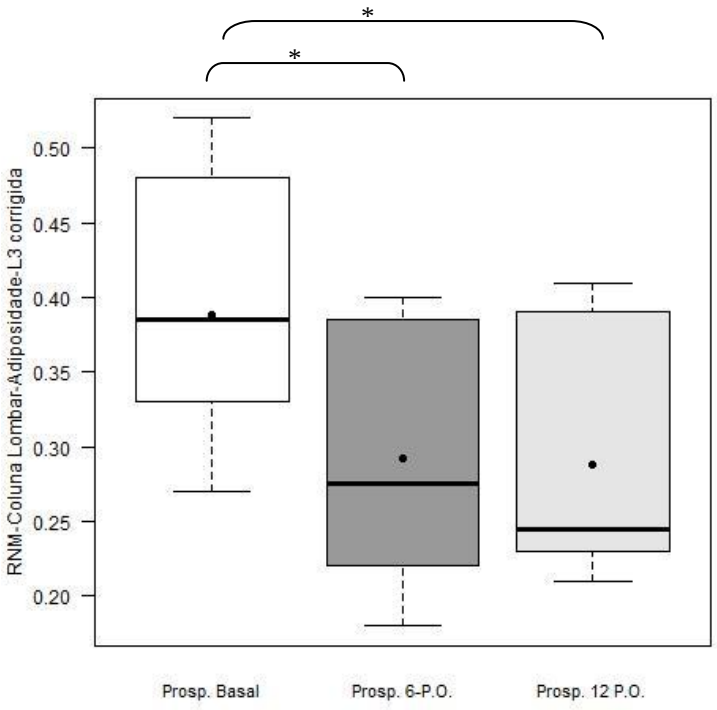

Figura 53 – O gráfico mostra os resultados de adiposidade de medula óssea em terceira vértebra lombar (%) obtidos por ressonância magnética dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

A Tabela 30 ilustra os dados de quantificação de SAT, VAT e IHL por de RM através do *software* Display nos indivíduos do estudo prospectivo. Nesta avaliação, os indivíduos no 6º mês PO e 12º mês PO, quando comparados ao período Pré-op, apresentaram redução significativa da área de VAT (Pré-op=13.992,86 ± 7.199,10, 6º mês PO=8.425,33 ± 4.954,12, 12º mês PO=10.274,00 ± 5.823,30mm², p<0,05), na relação VAT/SAT (Pré-op=0,52 ± 0,38, 6º mês PO=0,42 ± 0,30, 12º mês PO=0,30 ± 0,16, p<0,05) e no IHL (Pré-op=14,03 ± 14,44, 6º mês PO=6,87 ± 6,19, 12º mês PO=6,52 ± 6,35%, p<0,05). Com relação à área de SAT, apenas os indivíduos no 6º mês PO apresentaram menor valor do que o período Pré-op (Pré-op=30.409,56 ± 12.694,70, 6º mês PO=23.817,22 ± 11.463,84, 12º mês PO=32.236,89 ± 14.214,55, p<0,05) (Figura 54, Figura 55, Figura 56 e Figura 57).

Tabela 30 - Resultados do exame de ressonância magnética de abdômen para os grupos na avaliação prospectiva

	Pré-op (n=8)	6º mês PO (n=8)	12º mês (n=7)
Área de SAT (mm²)	30409,56 ± 12694,70	23817,22 ± 11463,84‡	32236,89 ± 14214,55
Área de VAT (mm²)	13992,86 ± 7199,10	8425,33 ± 4954,12‡	10274,00 ± 5823,30¶
VAT/SAT	0,52 ± 0,38	0,42 ± 0,30‡	0,30 ± 0,16¶
IHL (%)	14,03 ± 14,44	6,87 ± 6,19‡	6,52 ± 6,35¶

Nota. Pré-op = período pré-operatório; 6º mês PO = sexto mês pós-operatório; 12º mês PO = décimo segundo mês pós-operatório; SAT = tecido adiposo subcutâneo; VAT = tecido adiposo visceral; VAT/SAT = relação entre VAT e SAT; IHL = lipídeos intra-hepáticos

¶ significa diferença entre o grupo 12º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, p<0,05

‡ significa diferença entre o grupo 6º mês PO quando comparado ao grupo pré-op, p<0,05

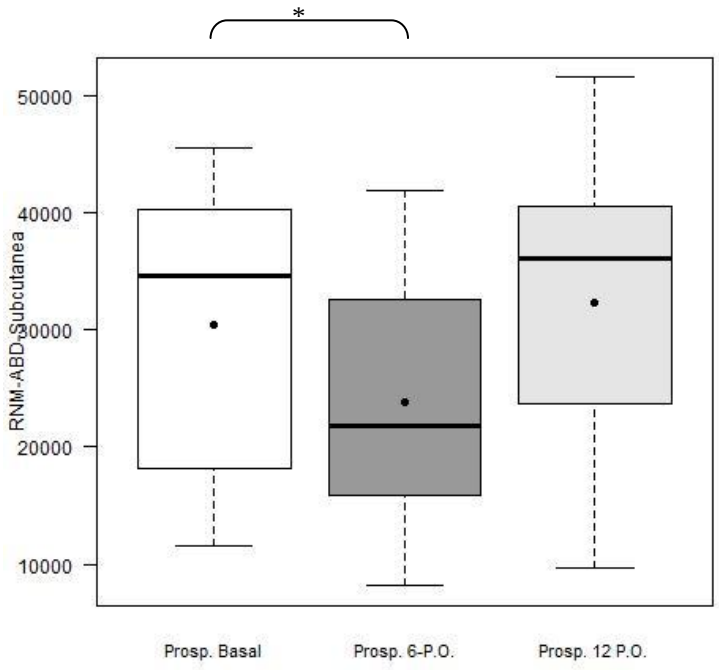

Figura 54 – O gráfico mostra os resultados da área de tecido adiposo subcutâneo (mm²) obtidos por ressonância magnética dos indivíduos no estudo prospectivo

* significa diferença entre os grupos, p<0,05

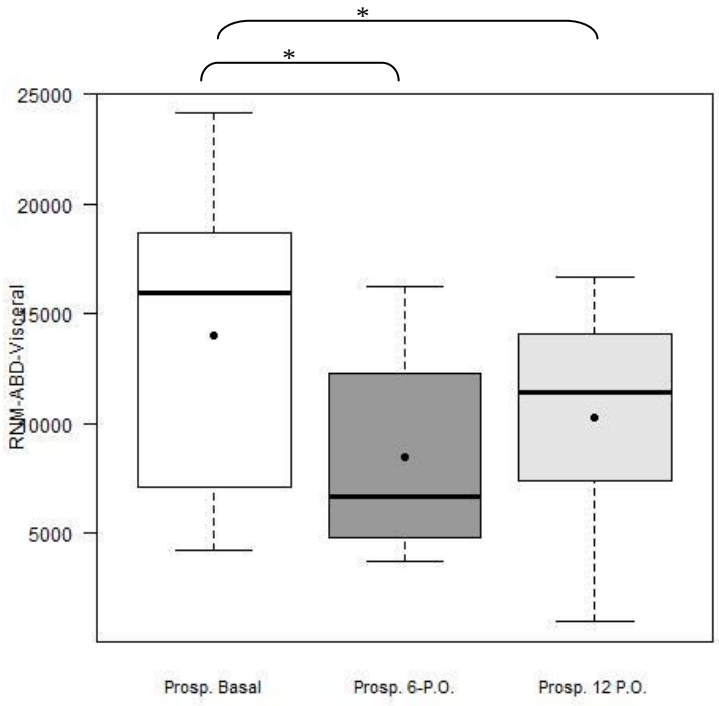

Figura 55 – O gráfico mostra os resultados da área de tecido adiposo visceral (mm²) obtidos por ressonância magnética dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

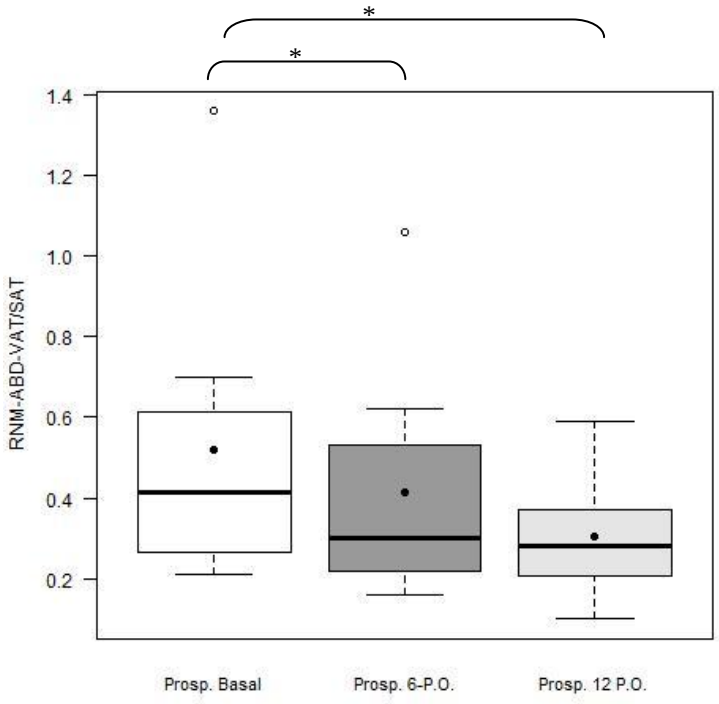

Figura 56 – O gráfico mostra os resultados da relação das áreas de tecido visceral e adiposo obtidos por ressonância magnética dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

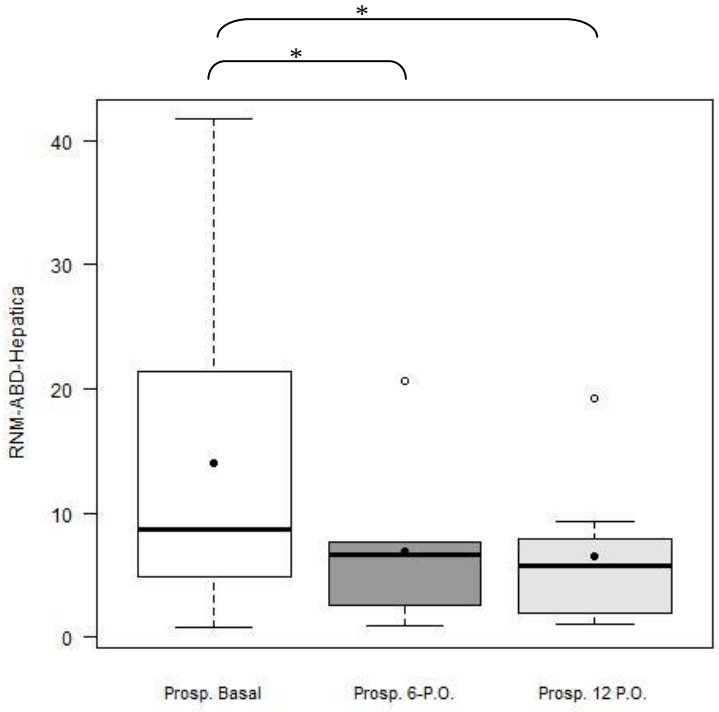

Figura 57 – O gráfico mostra os resultados de lipídeos intra-hepáticos (%) obtidos por ressonância magnética dos indivíduos no estudo prospectivo
* significa diferença entre os grupos, p<0,05

Correlações

As correlações observadas entre os diversos parâmetros bioquímicos, hormonais, DMO, TBS, AMO, SAT, VAT, IHL e VAT/SAT estão listadas nas Tabela 31, Tabela 32, Tabela 33. Cabe salientar que não observamos correlação de tamanho tumoral, tempo de doença ou dos níveis de androgênios com DMO, TBS, AMO de L3, SAT, VAT, relação VAT/SAT, IHL ou EAC da DC.

Quando avaliado juntamente os perídos Pré-op, 6° mês PO e 12° mês PO, observamos que o peso e o IMC se correlacionaram positivamente com DMO de coluna lombar, quadril total, colo do fêmur e corpo total (Tabela 32). A insulinemia se correlacionou positivamente com DMO de quadril total (r=0,5, p<0,05) e colo dofêmur (r=0,5, p<0,05), mas negativamente com TBS (r=-0,5, p<0,01). A FA e o IGF-I e não se correlacionaram com nenhum dos parâmetros avaliados. A osteocalcina se correlacionou negativamente com IMG (r=-0,4, p<0,05). A deoxipiridinolina se correlacionou negativamente com VAT (r=-0,5, p<0,05) e positivamente com TBS (r=0,5, p<0,05). A leptina se correlacionou positivamente

com DMO de quadril total (r=0,4, p<0,05) e colo do fêmur (r=0,5, p<0,05). Adicionalmente, a leptina se correlacionou positivamente com IMG, SAT e VAT conforme era esperado (Tabela 31). A adiponectina se correlacionou negativamente com AMO de L3 (r=-0,6, p<0,01) e relação VAT/SAT (r=-0,6, p<0,01), mas positivamente com TBS (r=0,4, p<0,05). O Pref-1 se correlacionou positivamente com AMO de L3 (r=0,6, p<0,01), IHL (r=0,5, p<0,05) e VAT/SAT (r=0,8, p<0,0001). O IMG se correlacionou positivamente com DMO de coluna lombar (r=0,6, p<0,001), quadril total (r=0,7, p<0,0001), colo do fêmur (r=0,8, p<0,0001) e corpo total (r=0,4, p<0,05). O IMMA pelos critérios de Baumgartner se correlacionou positivamente com DMO de coluna lombar (r=0,5, p<0,05), quadril total (r=0,7, p<0,0001), colo do fêmur (r=0,7, p<0,0001) e corpo total (r=0,4, r<0,05), mas negativamente com TBS (r=-0,4, p<0,05). A AMO de L3 se correlacionou negativamente com TBS de L3 (r=-0,4, p<0,05). O SAT se correlacionou positivamente com DMO de coluna lombar (r=0,7, p<0,001), quadril total (r=0,8, p<0,0001) e colo do fêmur (r=0,9, p<0,0001). O VAT se correlacionou positivamente com DMO de quadril total (r=0,6, p<0,01), colo do fêmur (r=0,6, p< 0,01) e corpo total (r=0,5, p<0,05). O IHL se correlacionou negativamente com TBS de L3 (r=-0,6, p<0,01).

Tabela 31 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo, peptídeos de origem no tecido adiposo com as medidas de composição corporal por DXA e de adiposidade obtidas por RM no estudo prospectivo dos períodos Pré-op (n=11), 6° mês PO (n=10) e 12° mês PO (n=10)

Parâmetros	IMG	IMMA (Baumgartner)	IMMA (FNIH)	AMO	SAT	VAT	IHL	VAT/SAT
Idade	-0,2	0,0	0,3	0,3	-0,4*	0,2	0,1	0,4
Peso	0,9****	0,7****	-0,3	0,1	0,9****	0,7***	0,3	-0,1
IMC	0,9****	0,7****	-0,4*	0,0	0,9****	0,7***	0,2	-0,1
Glicemia	-0,2	-0,1	0,3	0,3	-0,3	0,1	0,3	0,6*
Insulina	0,4	0,7****	0,2	0,1	0,6**	0,2	0,0	-0,1
HOMA-IR	0,2	0,6**	0,2	0,1	0,4	0,3	0,1	0,1
HbA1c	0,0	-0,2	-0,1	0,3	-0,1	0,4	0,5	0,4
FA	0,0	0,0	0,0	-0,1	-0,2	0,0	0,0	0,1
IGF-I	0,0	0,2	0,2	0,1	0,3	0,1	0,2	0,0
Osteocalcina	-0,4*	-0,1	0,2	-0,3	-0,3	-0,3	-0,2	-0,1
Deoxipiridinolina	-0,2	-0,1	0,3	-0,4	-0,3	-0,5*	-0,3	-0,4
Leptina	0,5**	0,4*	-0,1	0,3	0,5*	0,6**	0,3	0,0
Adiponectina	0,5**	-0,1	-0,7***	-0,6**	0,3	-0,2	-0,5	-0,6**
Pref-1	-0,2	-0,1	0,1	0,6**	-0,2	0,3	0,5*	0,8****

Nota: DXA = *dual-energy X-ray absorciometry*; RM = ressonância magnética; IMC = índice de massa corporal; EAC = escore de atividade clínica; HOMA-IR = *Homeostatic model assessment - insulin resistance*; HbA1c = hemoglobina glicosilada; FA = fosfatase alcalina; IGF-I = fator de crescimento semelhante à insulina; Pref-1 = *preadipocyte factor 1*; IMG = índice de massa gorda; IMMA = índice de massa magra; FNIH = *Foundation for the National Institutes of Health*; AMO = adiposidade de medula óssea de terceira vértebra lombar; SAT = tecido adiposo subcutâneo; VAT = tecido adiposo visceral; IHL = lipídeos intra-hepáticos; VAT/SAT = relação entre VAT e SAT
*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001

Tabela 32 - Valores (r) da correlação entre parâmetros antropométricos, parâmetros bioquímicos, peptídeos de origem no tecido ósseo, peptídeos de origem no tecido adiposo com densidade mineral óssea e TBS no estudo prospectivo dos períodos Pré-op (n=11), 6° mês PO (n=10) e 12° mês PO (n=10)

Parâmetro	Coluna lombar	Vértebra L3	Quadril total	Colo do fêmur	Antebraço total	Terço do rádio	Corpo total	TBS L1-L4	TBS L3
Idade	-0,3	-0,4	0,0	-0,2	0,4*	0,3	0,3	0,1	0,1
Peso	0,6***	0,6**	0,8****	0,9****	0,0	0,0	0,5**	-0,3	-0,2
IMC	0,7****	0,6***	0,8****	0,9****	-0,1	-0,1	0,5**	-0,2	-0,1
Glicemia	-0,1	-0,1	-0,1	-0,1	0,2	0,5**	0,1	0,0	0,0
Insulina	0,3	0,2	0,5*	0,5*	0,1	0,1	0,3	-0,5**	-0,6**
HOMA-IR	0,3	0,1	0,4	0,4	0,1	0,2	0,3	-0,3	-0,4
HbA1c	-0,1	-0,1	0,0	0,0	0,2	0,6*	0,1	0,3	0,3
FA	-0,1	-0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1
IGF-I	0,0	0,0	0,1	0,1	-0,1	-0,2	-0,1	0,0	-0,2
Osteocalcina	-0,3	-0,2	-0,2	-0,2	0,0	0,0	-0,1	0,1	0,0
Deoxipiridinolina	-0,1	-0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,5*	0,4*
Leptina	0,2	0,0	0,4*	0,5*	0,1	-0,1	0,5*	-0,3	-0,3
Adiponectina	0,3	0,4	0,1	0,2	-0,2	-0,3	0,0	0,4*	0,6**
Pref-1	-0,1	0,0	-0,1	-0,2	0,0	0,1	-0,1	0,0	-0,1

Nota: TBS = *Trabecular bone score*; IMC = índice de massa corporal; EAC = escore de atividade clínica; HOMA-IR = *Homeostatic model assessment - insulin resistance*; HbA1c = hemoglobina glicosilada; FA = fosfatase alcalina; IGF-I = fator de crescimento semelhante à insulina; Pref-1 = *preadipocyte factor 1;* TBS L1-L4 = *Trabecular bone score* de coluna lombar; TBS L3 = *Trabecular bone score* de terceira vértebra lombar
*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001

Tabela 33 - Valores (r) da correlação entre medidas de adiposidade obtidas através de composição corporal por DXA e por RM com densidade mineral óssea e TBS no estudo prospectivo dos períodos Pré-op (n=11), 6° mês PO (n=10) e 12° mês PO (n=10)

Parâmetro	Coluna lombar	Vértebra L3	Quadril total	Colo do fêmur	Antebraço total	Terço do rádio	Corpo total	TBS L1-L4	TBS L3
IMG	0,6***	0,6***	0,7****	0,8****	-0,1	-0,2	0,4*	-0,2	-0,1
IMMA									
Baumgartner	0,5**	0,4	0,7****	0,7****	0,0	-0,1	0,4*	-0,4*	-0,4*
FNIH	-0,2	-0,3	-0,1	-0,2	0,1	0,2	0,0	-0,2	-0,3
AMO	-0,2	-0,3	-0,1	-0,2	0,1	0,2	0,0	-0,4	-0,4*
SAT	0,7***	0,6**	0,8****	0,9****	-0,1	-0,1	0,4	-0,1	0,0
VAT	0,4	0,3	0,6**	0,6**	0,1	0,2	0,5*	-0,4	-0,4
IHL	0,4	0,3	0,4	0,2	0,2	0,3	0,1	-0,4	-0,6**
VAT/SAT	0,0	0,0	0,0	-0,1	0,0	0,3	0,2	-0,2	-0,4

Nota: DXA = *dual-energy X-ray absorciometry*; RM = ressonância magnética; TBS = *Trabecular bone score*; IMG = índice de massa gorda; IMMA = índice de massa magra; FNIH = *Foundation for the National Institutes of Health*; AMO = adiposidade de medula óssea de terceira vértebra lombar; SAT = tecido adiposo subcutâneo; VAT = tecido adiposo visceral; IHL = lipídeos intra-hepáticos; VAT/SAT = relação entre VAT e SAT; TBS L1-L4 = *Trabecular bone score* de coluna lombar; TBS L3 = *Trabecular bone score* de terceira vértebra lombar
*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001

5. DISCUSSÃO

Discussão

Desde os primeiros casos descritos por Harvey Cushing (Cushing, 1932), despertou-se grande interesse na caracterização da obesidade e da distribuição de gordura corporal dos indivíduos com hipercortisolismo. Hiramatsu *et al.* descreveu a predominância de obesidade de característica truncal em mulheres com síndrome de Cushing, de tal maneira que esta característica antropométrica é muito útil para o rastreamento e reconhecimento destes indivíduos (Hiramatsu *et al.*, 1983). Adicionalmente, o acompanhamento prospectivo deste parâmetro demonstrou ser um indicador de resposta ao tratamento cirúrgico. Em conformidade com estes autores, observamos em nosso estudo, no grupo DC, uma prevalência de 75% de obesidade e 6,3% de sobrepeso. Em relação ao predomínio de obesidade truncal, todos os indivíduos do grupo DC apresentaram valores de CA significativamente maiores em relação aos grupos C e O. Finalmente, após o procedimento cirúrgico, houve redução significativa do peso e do IMC nos indivíduos com DC no 6º mês PO seguido de estabilização no 12º mês PO quando comparados ao período Pré-op.

A apresentação típica de obesidade truncal em indivíduos com hipercortisolismo, aliado a observação de fragilidade capilar, imunossupressão, miopatia proximal, distúrbios de humor, hipertensão, alteração de metabolismo energético, distúrbios eletrolíticos, hiperandrogenismo e disfunção gonadal justificaram o desenvolvimento de escores clínicos para avaliar o grau de atividade da DC. Baseado nestes parâmetros clínicos, Sonino *et al.* estabeleceram um índice de gravidade que discriminou de maneira significativa a remissão de indivíduos com síndrome de Cushing antes e depois do tratamento cirúrgico (Sonino *et al.*, 2000). Entretanto, Elias *et al.* demonstraram que o EAC não se correlacionou com o grau de hipercortisolismo, sugerindo que a gravidade da doença não depende apenas dos níveis de cortisol, mas de outros fatores como, por exemplo, a susceptibilidade ao hipercortisolismo devido à variabilidade individual de expressão da enzima 11β-HSD1 (Cooper *et al.*, 2002; Elias *et al.*, 2014). Em nosso estudo, utilizamos o EAC como ferramenta na avaliação prospectiva de indivíduos com DC submetidos à abordagem cirúrgica, demonstrando a utilidade deste instrumento no seguimento destes indivíduos. Em oposição a Elias *et al.*, observamos que o EAC se correlacionou positivamente com os níveis de cortisol salivar às 09h e 23h e também com o UFC, mas não se correlacionou com tempo de doença ou tamanho tumoral. Embora o EAC tenha se correlacionado com o grau de hipercortisolismo, o fato de

não observarmos uma correlação do EAC com o tempo de doença reforça a hipótese de que a susceptibilidade individual ao cortisol seja também um fator importante na determinação de gravidade clínica da doença.

Outro aspecto importante a ressaltar é que não há dados na literatura de prevalência de hipovitaminose D na doença de Cushing. Nosso estudo documentou, prospectivamente, os níveis de 25(OH)D em indivíduos com DC. Observamos uma prevalência de hipovitaminose D elevada, atingindo 62,5% dos indivíduos do grupo DC comparados aos 43,7% do grupo O e 40,7% do grupo C, quando utilizado os critérios do IOM (*Institute of Medicine*, 2011). Quando avaliados prospectivamente, houve uma melhora acentuada dos níveis de 25(OH)D nos indivíduos com DC, com 72,7% de prevalência de hipovitaminose D no período pré-operatório e 30% no 6º mês PO e 12º mês PO, quando utilizado os critérios da IOM (*Institute of Medicine*, 2011). Por outro lado, a prevalência de hipovitaminose D aumentou para 93,8% dos indivíduos do grupo DC, 93,7% dos indivíduos do grupo O e 74,0% dos indivíduos do grupo C quando utilizado os critérios da ESCPG (Holick *et al.*, 2011). A melhora na classificação clínica observada pelos critérios do IOM praticamente não ocorre quando se utiliza os critérios da ESCPG (Holick *et al.*, 2011), com 90,9% de prevalência de hipovitaminose D no período Pré-op, 90% no 6º mês PO e 80% no 12º mês PO. Além das alterações do metabolismo da vitamina D devido ao estado de hipercortisolismo, a baixa exposição solar e a obesidade poderiam contribuir para a maior prevalência de hipovitaminose D nestes indivíduos (Mehmood e Papandreou, 2016).

Independentemente do critério utilizado, a prevalência de hipovitaminose D entre os indivíduos com DC não se associou a presença de hiperparatireoisdismo secundário. Estes dados estão de acordo com estudos anteriores nos quais não se observou alteração de secreção basal de PTH no hipercortisolismo, sugerindo que este não é um mecanismo importante de perda de massa óssea nesta situação (Lanna *et al.*, 2002; Bonadonna *et al.*, 2005). Adicionalmente, nossos dados reforçam estudos prévios em que não se observou grande influência do hipercortisolismo na redução da concentração de IGF-I circulante (Malerba *et al.*, 2005; Bredella *et al.*, 2014). Outra particularidade quanto à participação hormonal como fator de surgimento de doença óssea no hipercortisolismo endógeno é a descrição prévia de maior acometimento ósseo em indivíduos com hipercortisolismo de origem adrenal em relação ao hipofisário. Neste último, o aumento de andrógenos adrenais, principalmente do DHEAS, como ocorre na DC poderia exercer um papel protetor no esqueleto (Ohmori *et al.*, 2003; Minetto *et al.*, 2004). Em oposição, nossos dados não demonstraram correlação de

andrógenos adrenais com DMO, TBS, AMO, SAT, VAT ou IHL, sugerindo que o hipercortisolismo na DC se sobrepõe aos efeitos protetores dos esteroides sexuais no metabolismo ósseo. De maneira complementar, outros estudos não demonstraram diferenças de DMO entre indivíduos com síndrome de Cushing quando comparado mulheres eumenorreicas e amenorreicas (Karavitaki *et al.*, 2004; Tauchmanovà *et al.*, 2006).

Dados prévios na literatura de prevalência de osteopenia e osteoporose em DC, variam de 60-80% e 30-65%, respectivamente (Mancini *et al.*, 2004; Van Der Eerden *et al.*, 2007; Kawamata *et al.*, 2008). Em nosso estudo, observamos que 18,7% dos indivíduos do grupo DC apresentavam baixa massa óssea contra apenas 3,7% do grupo C e nenhum do grupo O, portanto evidenciando maior prevalência de baixa massa óssea no grupo DC. A baixa prevalência observada de baixa massa óssea em relação aos estudos anteriores poderia ser justificada por se tratarem de populações distintas e pelo fato de que o critério de classificação adotado em nosso estudo foi segundo o Z-score e não segundo o T-score, como utilizado nos estudos prévios. É interessante ressaltar, que neste aspecto, a obesidade secundária à DC difere da obesidade primária, pois neste último caso existe uma correlação positiva entre IMC e massa óssea. Neste sentido, não observamos diferenças na DMO de quadril total e colo de fêmur entre os grupos O e DC, sendo que a preservação de massa óssea nestes sítios parece estar relacionada à sobrecarga mecânica. Os sítios do fêmur proximal são os que sofrem maior influência mecânica do peso (Gilsanz *et al.*, 2009), inclusive observamos uma correlação positiva da DMO de quadril total e colo do fêmur com o peso e o IMC nos grupos C, O e DC. O antebraço total e o terço de rádio também não diferiram entre os grupos, indicando que as regiões com predomínio de osso cortical sofrem menor ação negativa do hipercortisolismo. Outro aspecto a ser ressaltado no presente estudo é a manutenção da massa óssea apesar da perda de peso dos indivíduos que apresentaram remissão do hipercortisolismo, diferentemente ao observado em pacientes obesos submetidos à cirurgia bariátrica, onde a perda de peso acentuada e rápida que ocorre se associa também à perda de massa óssea significativa. A redução observada em DMO de antebraço total do período Pré-op em relação aos períodos Pré-op e 6º mês PO, apesar de estatisticamente significativa, não tem relevância clínica quando ponderado o CV do método.

O presente estudo é o primeiro a avaliar o parâmetro de qualidade óssea (TBS), em pacientes com DC. Os dados mostram que o TBS foi capaz de evidenciar um espectro de acometimento de qualidade óssea em obesos e DC, sendo que o valor de TBS no obeso foi menor que no controle e que o TBS foi ainda menor no grupo DC em relação aos controles e

obesos. Estes dados justificam a suscetibilidade a fratura em obesos, apesar de massa óssea preservada e a maior fragilidade óssea no hipercortisolismo que apresentam prejuízo de quantidade e de qualidade óssea. (Canalis *et al.*, 2004; Mancini *et al.*, 2004; Premaor *et al.*, 2014).

Outro aspecto importante em indivíduos com hipercortisolismo é a prevalência de alteração do metabolismo dos carboidratos. É descrito na literatura uma prevalência de *diabetes mellitus* ou intolerância à glicose entre 40-90% dos indivíduos com síndrome de Cushing (Danese e Aron, 1994; Canalis e Giustina, 2001; Nieman, 2002; De Paula *et al.*, 2010; Miranda *et al.*, 2011; Mirza e Canalis, 2015). Em conformidade, observamos uma prevalência de 68,8% de diabéticos (n=11) e 12,5% com intolerância à glicose (n=2) no grupo DC. Adicionalmente, caracterizamos um maior comprometimento nestes indivíduos, do ponto de vista do metabolismo energético, quando observamos que o HOMA-IR e a leptina foram significativamente maiores no grupo DC quando comparado aos grupos C e O. Conforme a expectativa, a melhora do controle glicêmico e a redução dos níveis de HOMA-IR e leptina ocorreram após a abordagem cirúrgica destes indivíduos, de maneira precoce e sustentada, como observado no seguimento prospectivo. Esses dados indicam que nestes indivíduos a maior resistência à insulina e à leptina, são reversíveis com a remissão do hipercortisolismo.

Fulzele *et al.* descreveram a relação recíproca entre alteração do metabolismo dos carboidratos e da resistência insulínica com o metabolismo ósseo. Este grupo de pesquisadores demonstrou, *in vitro* e *in vivo*, que a ausência de expressão de receptor de insulina em osteoblastos diminui a osteoblastogênese e mineralização óssea (Fulzele *et al.*, 2010). Adicionalmente, no estudo *in vivo*, observaram-se baixos níveis séricos de osteocalcina nos camundongos que não expressavam o receptor de insulina em osteoblastos. Estes animais desenvolviam, ao longo do tempo, adiposidade periférica, hiperglicemia e resistência insulínica. Contudo, quando tratados com infusão exógena de osteocalcina, estes animais apresentavam melhora dos parâmetros metabólicos (Fulzele *et al.*, 2010). Na DC, onde o diabetes mellitus é predominantemente associado à resistência à insulina, os níveis séricos de osteocalcina encontravam-se bastante reduzidos em relação aos grupos C e O. Adicionalmente, no estudo basal, a osteocalcina se correlacionou positivamente com TBS, mas negativamente com HOMA-IR, AMO de L3, SAT, VAT, relação SAT/VAT e IHL, corroborando a inter-relação endócrina do metabolismo energético, distribuição de gordura e tecido ósseo observada em estudos anteriores. Finalmente, no estudo prospectivo, a osteocalcina de correlacionou positivamente com FA e deoxipiridinolina, mas negativamente com EAC e

leptina, sugerindo que o remodelamento ósseo relaciona-se com o metabolismo energético e com o tecido adiposo.

Adicionalmente, o grupo DC apresentou menor DMO em coluna lombar e TBS em relação aos grupos C e O, demonstrando o prejuízo característico do osso trabecular e da qualidade óssea no hipercortisolismo. Ainda, nossos dados corroboram estudo clínico transversal em pacientes com DC realizado anteriormente por nosso grupo, que demonstrou massa óssea reduzida decorrente principalmente da redução da formação óssea, suportado pelos baixos níveis de osteocalcina e menor DMO em coluna lombar observado nestes indivíduos (Miranda *et al.*, 2011). Esse mesmo estudo observou normalização da DMO de coluna lombar em indivíduos em remissão da DC cerca de dez anos após a abordagem cirúrgica, sugerindo que a recuperação da massa óssea ocorre de maneira lenta e gradual; dados compatíveis foram obtidos em outros estudos (Manning *et al.*, 1992; Hermus *et al.*, 1995; Di Somma *et al.*, 2003). Em conformidade, no seguimento prospectivo observamos uma melhora no metabolismo energético e dos níveis de osteocalcina aliado a um aumento dos níveis de deoxipiridinolina urinária, porém valores estáveis de DMO de coluna lombar e TBS. Estes dados indicam ocorrer retomada da atividade de remodelamento ósseo após a remissão clínica da DC, mas sugerindo que a recuperação da massa óssea nestes indivíduos ocorra em longo prazo. Por outro lado, a ausência de novas fraturas vertebrais assintomáticas sugere que a remissão clínica do hipercortisolismo talvez seja suficiente, em curto prazo, para reduzir o risco de fraturas por melhora de qualidade óssea, como observado no tratamento de osteoporose com drogas antirreabsortivas.

A associação entre metabolismo energético e ósseo, aliado ao fato de que os osteoblastos compartilham com os adipócitos a mesma origem celular (célula-tronco mesenquimal), sugere que o tecido ósseo e adiposo tenham forte inter-relação. De fato, Bredella *et al.* demonstraram que mulheres com anorexia nervosa apresentavam maior AMO em relação aos controles e que a quantidade de AMO tem correlação inversa com a DMO (Bredella *et al.*, 2009). Neste contexto, o aumento de AMO em uma situação de expressiva escassez de SAT e VAT incita questões importantes de como a distribuição do tecido adiposo pode influenciar no metabolismo ósseo e energético. Cawthorn *et al.* demonstrou que o aumento paradoxal de adiponectina em estados de restrição calórica tem origem no adipócito da medula óssea. Esta adipocina possui influência benéfica no metabolismo energético e na saúde cardiovascular (Cawthorn *et al.*, 2014). Adicionalmente, Kanazawa descreveu os efeitos da adiponectina na massa óssea, além da interdependência entre a secreção de adiponectina,

osteocalcina e insulina, destacando o papel endócrino do tecido ósseo nos tecidos pancreático e adiposo (Kanazawa, 2012; 2015). Nesta mesma linha, Moon *et al.* estudaram o papel da expressão do Pref-1 e sua influência no tecido adiposo. Modelos de *knockout* do Pref-1 em camundongos revelaram um fenótipo complexo, destacando-se o retardo do crescimento, malformações esqueléticas e obesidade acentuada (Moon *et al.*, 2002). Ainda, Fazeli *et al.* observaram que, em mulheres com anorexia nervosa, os níveis de Pref-1 se correlacionaram positivamente com a AMO (Fazeli *et al.*, 2010). Em nosso estudo, observamos baixos níveis de adiponectina no grupo DC em relação aos grupos C e O, mas não houve diferenças quanto aos níveis de Pref-1. Adicionalmente, não observamos diferenças significativas entre os níveis de adiponectina e de Pref-1 no estudo prospectivo. Estes resultados em relação ao Pref-1 podem sinalizar que esta adipocina não seja importante no contexto do hipercortisolismo. Contudo, no seguimento prospectivo, o Pref-1 se correlacionou negativamente com a adiponectina e positivamente com a AMO de L3, sugerindo que o papel desta adipocina tanto na adipogênese como na osteogênese seja provavelmente mais complexo.

Diante desta relação complexa entre tecido ósseo e tecido adiposo, a caracterização da distribuição de adiposidade nos indivíduos com hipercortisolismo pode contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos hormonais envolvidos nas alterações de tolerância à glicose e osteoporose secundárias à DC. Yoshida *et al.* observou, em indivíduos com síndrome de Cushing, que tanto a VAT como a relação VAT/SAT se correlacionavam positivamente com as concentrações de cortisol. (Hiramatsu *et al.*, 1983; Yoshida *et al.*, 1991). Este mesmo grupo de pesquisadores estudou a distribuição de VAT e SAT em ratos, através de tomografia computadorizada (TC), em diversos distúrbios endócrinos, sendo que seus resultados indicaram fortemente que a insulina é o principal hormônio envolvido na formação de VAT e o estrógeno na formação do SAT. De maneira complementar, Geer *et al.* avaliaram a massa magra e a massa gorda em quinze mulheres com DC através de RM, observando que estes indivíduos apresentavam maior acúmulo de gordura corporal, com predomínio de VAT e SAT em região truncal, com relação VAT/SAT aumentada em relação aos controles, além de massa muscular reduzida (Geer *et al.*, 2010). Posteriormente, Geer *et al.* avaliaram, prospectivamente, em catorze indivíduos com DC, sendo doze mulheres, o comportamento dos níveis séricos de glicose, insulina, leptina e adiponectina, bem como a quantificação de massa muscular, VAT e AMO por RM, no período pré-operatório e após 20 meses, em média, da remissão clínica por cirurgia transesfenoidal. Esse estudo demonstrou melhora dos níveis séricos de glicose, insulina e leptina, bem como redução de massa muscular, VAT e AMO, mas

não observou melhora dos níveis de adiponectina, sugerindo que mesmo após a remissão clínica estes indivíduos permanecem com risco cardiovascular aumentado (Geer *et al.*, 2012; Whitworth *et al.*, 2005).

Nosso estudo é um dos poucos a avaliar prospectivamente, em indivíduos com DC, a inter-relação entre marcadores do metabolismo energético, a composição corporal por DXA, a quantificação de adiposidade por RM com densidade mineral e qualidade óssea. Em conformidade com os resultados de Geer *et al.*, observamos que os indivíduos com DC apresentaram parâmetros metabólicos desfavoráveis, além de maior adiposidade em relação aos grupos C e O e, observamos também, de maneira mais precoce (seis meses após abordagem cirúrgica), a melhora destes parâmetros metabólicos e redução da adiposidade, porém sem melhora dos níveis séricos de adiponectina (Geer *et al.*, 2010; Geer *et al.*, 2012). A avaliação da composição corporal por DXA demonstrou que os grupos DC e O apresentaram maior quantidade de massa gorda em relação ao grupo C. Os grupos DC e O tiveram maior porcentagem de gordura corporal total e maior índice de massa gorda. Quando classificados pelo IMG, os indivíduos do grupo C tiveram prevalência de 33,3% de sobrepeso, o grupo O teve prevalência de 43,8% de sobrepeso e 50% de obesidade e o grupo DC teve prevalência de 18,8% de sobrepeso e 75% de obesidade (Kelly *et al.*, 2009). O IMMA pelos critérios de Baumgartner evidenciou maiores valores nos grupos DC e O (Baumgartner *et al.*, 1998). Todavia, quando utilizado o IMMA pelos critérios do FNIH, tanto o grupo DC como o grupo O tiveram valores mais baixos em relação ao grupo C (Mclean *et al.*, 2014). Isto pode sugerir que o IMMA pelos critérios do FNIH seja mais adequado nestes grupos por corrigir a massa magra apendicular pelo IMC. De fato, a prevalência de baixa massa magra foi maior no grupo DC e grupo O quando utilizando os critérios do FNIH (Mclean *et al.*, 2014). De maneira complementar, no seguimento prospectivo, observamos redução da massa gorda e da porcentagem de gordura corporal total nos indivíduos. A prevalência de sobrepeso e obesidade reduziu de 90,9% no Pré-op para 60,0% no 6° mês PO e 62,5% no 12° mês PO. Em contraste aos resultados de Geer *et al.*, não houve mudanças significativas na massa magra total ou no IMMA pelos critérios de Baumgartner (Baumgartner *et al.*, 1998; Geer *et al.*, 2012). Em contrapartida, houve melhora do IMMA pelos critérios do FNIH, sendo observada uma prevalência de baixa massa magra em 54,6% das pacientes no Pré-op em contraste com 20% no 6° mês PO e 37,5% no 12° mês PO (Mclean *et al.*, 2014). Esta observação reforça a hipótese de que o IMMA pelos critérios do FNIH seja mais adequado nesta população.

Em conformidade ao descrito previamente por Geer *et al.*, em nosso estudo observamos que a AMO e o VAT foram maiores no grupo DC em relação aos grupos C e O; que o SAT, a relação VAT/SAT e o IHL foram maiores no grupo DC em relação ao grupo C; além de verificarmos de maneira mais precoce (seis meses após a cirurgia), a redução da AMO, do VAT, da relação VAT/SAT e do IHL durante o seguimento prospectivo (Geer *et al.*, 2010; Geer *et al.*, 2012). A maior quantidade de AMO observada no grupo DC dá suporte ao fato de que o hipercortisolismo favorece uma maior adipogênese na medula óssea em detrimento da osteoblastogênese (Bredella *et al.*, 2009). No grupo DC, apesar de não observarmos correlação entre AMO e DMO no estudo basal, esta hipótese é reforçada quando observamos a melhora da AMO no seguimento prospectivo associado a correlação negativa existente entre AMO e TBS . Outro dado interessante é a correlação positiva observada entre AMO com IHL e relação VAT/SAT. Isto mostra que a relação existente entre tecido adiposo e tecido ósseo é complexa e pouco entendida.

6. CONCLUSÃO

Conclusão

O presente estudo reafirma dados anteriores que indicam que o hipercotisolismo exerce grande impacto negativo sobre o metabolismo mineral, energético e ósseo. No entanto, os resultados obtidos contribuem nesta linha de investigação em diversos aspectos. O TBS é capaz discriminar o espectro de perda de qualidade óssea que ocorre na obesidade primária e secundária à doença de Cushing. Este achado tem considerável valor clínico e sugere que mais estudos sejam realizados para considerar este parâmetro para ajuste em algoritmos de previsão de risco de fratura no hipercortisolismo. Da mesma forma, o TBS mostra relação inversa com tecido adiposo visceral, sugerindo um possível mecanismo de surgimento de fragilidade óssea em indivíduos com obesidade em particular entre aqueles que apresentam um padrão associado à síndrome metabólica.

Observamos a influência negativa do excesso de peso e da alteração do metabolismo dos carboidratos em relação ao TBS. Por outro lado, o peso e o IMC exerceram influência positiva em DMO de quadril total e colo do fêmur. A osteocalcina apresentou relação positiva com TBS. Em contrapartida, a leptina apresentou correlação negativa com TBS. A FA possivelmente refletiu a infiltração gordurosa hepática que ocorre na DC. O Pref-1 refletiu a AMO de L3 no seguimento prospectivo.

O excesso de gordura e a adiposidade dos diferentes tecidos tiveram influência negativa na osteocalcina e adiponectina e positiva na leptina. Adicionalmente, a AMO teve impacto negativo na DMO de coluna lombar. Os diversos tipos de tecido adiposo se relacionaram negativamente com TBS. O aumento de DMO de quadril total e colo do fêmur associado ao excesso de peso pode ser atribuído à influência do SAT. O IMMA pelo critério do FNIH parece discriminar melhor os indivíduos com obesidade e com DC.

A inter-relação entre metabolismo dos carboidratos e tecido ósseo é evidenciada pela relação negativa entre osteocalcina e HOMA-IR, bem como pela melhora da resposta ao GTT associado a elevação dos níveis de osteocalcina no estudo prospectivo. Adicionalmente, a relação negativa entre os níveis de leptina e osteocalcina demonstra a influência recíproca do tecido adiposo sobre o tecido ósseo.

No estudo prospectivo, a deoxipiridinolina relacionou-se de maneira inversa com a VAT e de maneira direta com TBS. A elevação simultânea da osteocalcina e da

deoxipiridinolina que ocorre com a remissão da DC pode ser um marcador clínico tanto de melhora da doença óssea como de melhora do hipercortisolismo nestas pacientes.

Nossos resultados encorajam novos estudos para a melhor compreensão da inter-relação entre metabolismo energético e dos diversos tipos de tecido adiposo envolvidos na deterioração tanto da massa óssea quanto da qualidade óssea em pacientes com DC.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerações finais

A inter-relação observada entre metabolismo energético, metabolismo ósseo, adiposidade visceral, hepática e de medula óssea no hipercortisolismo demonstra a complexidade dos mecanismos hormonais envolvidos. O impacto do hipercortisolismo endógeno na DC possivelmente é precoce tanto sobre o metabolismo energético quanto sobre o metabolismo ósseo. A obesidade secundária à DC acentua a tendência de acúmulo de gordura abdominal, aumenta a adiposidade na medula óssea e no tecido hepático, refletindo um maior desarranjo do metabolismo energético e do osteometabolismo em relação à obesidade primária. Adicionalmente, na DC, ocorre perda de massa óssea associado ao aumento de adiposidade de medula óssea. A influência do hipercortisolismo nos diversos tipos de tecido adiposo é evidenciada pela redução observada da adiposidade que ocorre após a remissão clínica.

8. BIBLIOGRAFIA

Bibliografia

ABAD, V. et al. Glucocorticoid excess during adolescence leads to a major persistent deficit in bone mass and an increase in central body fat. **J Bone Miner Res,** v. 16, n. 10, p. 1879-85, Oct 2001. ISSN 0884-0431 (Print). 0884-0431 (Linking).

ABDALLAH, B. M. et al. Regulation of human skeletal stem cells differentiation by Dlk1/Pref-1. **J Bone Miner Res,** v. 19, n. 5, p. 841-52, May 2004. ISSN 0884-0431 (Print). 0884-0431 (Linking).

ARNALDI, G. et al. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 88, n. 12, p. 5593-602, Dec 2003. ISSN 0021-972X (Print). 0021-972X (Linking).

BAUMGARTNER, R. N. et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. **Am J Epidemiol**, Cary**,** v. 147, n. 8, p. 755-63, Apr 15 1998. ISSN 0002-9262 (Print). 0002-9262 (Linking).

BIVER, E. et al. Influence of adipokines and ghrelin on bone mineral density and fracture risk: a systematic review and meta-analysis. In: (Ed.). **J Clin Endocrinol Metab**. United States, v.96, 2011. p.2703-13. ISBN 1945-7197 (Electronic). 0021-972X (Linking).

BONADONNA, S. et al. Chronic glucocorticoid treatment alters spontaneous pulsatile parathyroid hormone secretory dynamics in human subjects. In: (Ed.). **Eur J Endocrinol**. England, v.152, 2005. p.199-205. ISBN 0804-4643 (Print). 0804-4643 (Linking).

BRASIL. Resolução 196/96. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Conselho Nacional de Saúde.** 1996.

BREDELLA, M. A. et al. Increased bone marrow fat in anorexia nervosa. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 94, n. 6, p. 2129-36, Jun 2009. ISSN 1945-7197 (Electronic). 0021-972X (Linking).

BREDELLA, M. A. et al. Effects of growth hormone administration for 6 months on bone turnover and bone marrow fat in obese premenopausal women. **Bone,** v. 62, p. 29-35, May 2014. ISSN 1873-2763 (Electronic). 1873-2763 (Linking).

CANALIS, E. et al. Perspectives on glucocorticoid-induced osteoporosis. In: (Ed.). **Bone**. United States, v.34, 2004. p.593-8. ISBN 8756-3282 (Print). 1873-2763 (Linking).

CANALIS, E.; GIUSTINA, A. Glucocorticoid-induced osteoporosis: summary of a workshop. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 86, n. 12, p. 5681-5, Dec 2001. ISSN 0021-972X (Print). 0021-972X (Linking).

CARY, N. C. SAS/GRAPH Software:**SAS Institute Inc**, 1999.

CASTRO, M.; MOREIRA, A.C. Screening and diagnosis of Cushing's syndrome. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 51, n. 8, p. 1191-8, Nov 2007. Review.

CAWTHORN, W. P. et al. Bone marrow adipose tissue is an endocrine organ that contributes to increased circulating adiponectin during caloric restriction. **Cell Metab,** v. 20, n. 2, p. 368-75, Aug 5 2014. ISSN 1932-7420 (Electronic). 1550-4131 (Linking).

COOPER, M. S. et al. Osteoblastic 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity increases with age and glucocorticoid exposure. **J Bone Miner Res,** v. 17, n. 6, p. 979-86, Jun 2002. ISSN 0884-0431 (Print). 0884-0431 (Linking).

CUSHING, H. The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations. Pituitary basophilism. **Bull Johns Hopkins Hospital**, 1932.

DANESE, R. D.; ARON, D. C. Cushing's syndrome and hypertension. **Endocrinol Metab Clin North Am,** v. 23, n. 2, p. 299-324, Jun 1994. ISSN 0889-8529 (Print). 0889-8529 (Linking).

DE PAULA, F. J.; HOROWITZ, M. C.; ROSEN, C. J. Novel insights into the relationship between diabetes and osteoporosis. **Diabetes Metab Res Rev,** v. 26, n. 8, p. 622-30, Nov 2010. ISSN 1520-7560 (Electronic). 1520-7552 (Linking).

DHALIWAL, R. et al. Bone quality assessment in type 2 diabetes mellitus. **Osteoporos Int,** v. 25, n. 7, p. 1969-73, Jul 2014. ISSN 1433-2965 (Electronic). 0937-941X (Linking).

DI GREGORIO, S. et al. Comparison between different bone treatments on areal bone mineral density (aBMD) and bone microarchitectural texture as assessed by the trabecular bone score (TBS). In: (Ed.). **Bone**. United States: 2015 Elsevier Inc, v.75, 2015. p.138-43. ISBN 1873-2763 (Electronic). 1873-2763 (Linking).

DI SOMMA, C. et al. Effect of 2 years of cortisol normalization on the impaired bone mass and turnover in adolescent and adult patients with Cushing's disease: a prospective study. In: (Ed.). **Clin Endocrinol (Oxf)**. England, v.58, 2003. p.302-8. ISBN 0300-0664 (Print). 0300-0664 (Linking).

DIMITRI, P. et al. Leptin may play a role in bone microstructural alterations in obese children. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 100, n. 2, p. 594-602, Feb 2015. ISSN 1945-7197 (Electronic). 0021-972X (Linking).

DUCY, P. et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. In: (Ed.). **Cell**. United States, v.100, 2000. p.197-207. ISBN 0092-8674 (Print). 0092-8674 (Linking).

DUFOUR, R. et al. Generation and validation of a normative, age-specific reference curve for lumbar spine trabecular bone score (TBS) in French women. **Osteoporos Int,** v. 24, n. 11, p. 2837-46, Nov 2013. ISSN 1433-2965 (Electronic). 0937-941X (Linking).

ELIAS, P. C. et al. Late-night salivary cortisol has a better performance than urinary free cortisol in the diagnosis of Cushing's syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, Chevy Chase**,** v. 99, n. 6, p. 2045-51, Jun 2014. ISSN 0021-972x.

FAGGIANO, A. et al. Spine abnormalities and damage in patients cured from Cushing's disease. **Pituitary,** v. 4, n. 3, p. 153-61, Aug 2001. ISSN 1386-341X (Print). 1386-341X (Linking).

FAZELI, P. K. et al. Preadipocyte factor-1 is associated with marrow adiposity and bone mineral density in women with anorexia nervosa. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 95, n. 1, p. 407-13, Jan 2010. ISSN 1945-7197 (Electronic). 0021-972X (Linking).

FISHBEIN, M. et al. Hepatic MRI for fat quantitation: its relationship to fat morphology, diagnosis, and ultrasound. In: (Ed.). **J Clin Gastroenterol**. United States, v.39, 2005. p.619-25. ISBN 0192-0790 (Print). 0192-0790 (Linking).

FISHER, R. A. **Statistical Methods for Research Workers**. London: Oliver and Boyd, 1925. 324.

FRANCUCCI, C. M. et al. Bone metabolism and mass in women with Cushing's syndrome and adrenal incidentaloma. In: (Ed.). **Clin Endocrinol (Oxf)**. England, v.57, 2002. p.587-93. ISBN 0300-0664 (Print). 0300-0664 (Linking).

FULZELE, K. et al. Insulin receptor signaling in osteoblasts regulates postnatal bone acquisition and body composition. **Cell,** v. 142, n. 2, p. 309-19, Jul 23 2010. ISSN 1097-4172 (Electronic). 0092-8674 (Linking).

GEER, E. B. et al. MRI assessment of lean and adipose tissue distribution in female patients with Cushing's disease. **Clin Endocrinol (Oxf)**, Chichester**,** v. 73, n. 4, p. 469-75, Oct 2010. ISSN 0300-0664.

GEER, E. B. et al. Body composition and cardiovascular risk markers after remission of Cushing's disease: a prospective study using whole-body MRI. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 97, n. 5, p. 1702-11, May 2012. ISSN 0021-972x.

GENANT, H. K. et al. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. **J Bone Miner Res,** v. 8, n. 9, p. 1137-48, Sep 1993. ISSN 0884-0431 (Print). 0884-0431 (Linking).

GENNARI, C. Glucocorticoid induced osteoporosis. **Clin Endocrinol (Oxf),** v. 41, n. 3, p. 273-4, Sep 1994. ISSN 0300-0664 (Print).0300-0664 (Linking).

GIFRE, L. et al. Effect of glucocorticoid treatment on Wnt signalling antagonists (sclerostin and Dkk-1) and their relationship with bone turnover. In: (Ed.). **Bone**. United States: 2013., v.57, 2013. p.272-6. ISBN 1873-2763 (Electronic). 1873-2763 (Linking).

GILSANZ, V. et al. Reciprocal relations of subcutaneous and visceral fat to bone structure and strength. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 94, n. 9, p. 3387-93, Sep 2009. ISSN 1945-7197 (Electronic). 0021-972X (Linking).

GLUER, C. C. et al. Accurate assessment of precision errors: how to measure the reproducibility of bone densitometry techniques. **Osteoporos Int**, London**,** v. 5, n. 4, p. 262-70, 1995. ISSN 0937-941X (Print). 0937-941x.

HAMRICK, M. W. et al. Leptin treatment induces loss of bone marrow adipocytes and increases bone formation in leptin-deficient ob/ob mice. **J Bone Miner Res,** v. 20, n. 6, p. 994-1001, Jun 2005. ISSN 0884-0431 (Print). 0884-0431 (Linking).

HAMRICK, M. W. et al. Leptin deficiency produces contrasting phenotypes in bones of the limb and spine. In: (Ed.). **Bone**. United States, v.34, 2004. p.376-83. ISBN 8756-3282 (Print). 1873-2763 (Linking).

HANS, D. et al. Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: the Manitoba study. **J Bone Miner Res,** v. 26, n. 11, p. 2762-9, Nov 2011. ISSN 1523-4681 (Electronic). 0884-0431 (Linking).

HARVEY, N. C. et al. Trabecular bone score (TBS) as a new complementary approach for osteoporosis evaluation in clinical practice. **Bone,** v. 78, p. 216-24, Sep 2015. ISSN 1873-2763 (Electronic). 1873-2763 (Linking).

HATIPOGLU, H. G. et al. Quantitative and diffusion MR imaging as a new method to assess osteoporosis. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook**,** v. 28, n. 10, p. 1934-7, Nov-Dec 2007. ISSN 0195-6108 (Print).0195-6108.

HERMUS, A. R. et al. Bone mineral density and bone turnover before and after surgical cure of Cushing's syndrome. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 80, n. 10, p. 2859-65, Oct 1995. ISSN 0021-972X (Print). 0021-972X (Linking).

HIRAMATSU, R.; YOSHIDA, K.; SATO, T. A body measurement to evaluate the pattern of fat distribution in central obesity. A screening and monitoring technique for Cushing's syndrome. **JAMA,** v. 250, n. 23, p. 3174-8, Dec 16 1983. ISSN 0098-7484 (Print).0098-7484 (Linking).

HOLICK, M. F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 96, n. 7, p. 1911-30, Jul 2011. ISSN 0021-972x.

INSTITUTE OF MEDICINE COMMITTEE TO REVIEW DIETARY REFERENCE INTAKES FOR VITAMIN, D. A. C. The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. In: ROSS, A. C.;TAYLOR, C. L., *et al* (Ed.). **Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D**. Washington (DC): National Academies Press (US). National Academy of Sciences, 2011.

KAJIMURA, D. et al. Adiponectin regulates bone mass via opposite central and peripheral mechanisms through FoxO1. **Cell Metab,** v. 17, n. 6, p. 901-15, Jun 4 2013. ISSN 1932-7420 (Electronic). 1550-4131 (Linking).

KALTSAS, G.; MANETTI, L.; GROSSMAN, A. B. Osteoporosis in Cushing's syndrome. **Front Horm Res,** v. 30, p. 60-72, 2002. ISSN 0301-3073 (Print).0301-3073 (Linking).

KANAZAWA, I. Adiponectin in metabolic bone disease. In: (Ed.). **Curr Med Chem**. Netherlands, v.19, 2012. p.5481-92. ISBN 1875-533X (Electronic). 0929-8673 (Linking).

KANAZAWA, I. Osteocalcin as a hormone regulating glucose metabolism. **World J Diabetes,** v. 6, n. 18, p. 1345-54, Dec 25 2015. ISSN 1948-9358 (Electronic). 1948-9358 (Linking).

KARAVITAKI, N. et al. Evaluation of bone mineral density of the peripheral skeleton in pre- and postmenopausal women with newly diagnosed endogenous Cushing's syndrome. In: (Ed.). **Clin Endocrinol (Oxf)**. England, v.60, 2004. p.264-70. ISBN 0300-0664 (Print). 0300-0664 (Linking).

KAWAMATA, A. et al. Bone mineral density before and after surgical cure of Cushing's syndrome due to adrenocortical adenoma: prospective study. **World J Surg,** v. 32, n. 5, p. 890-6, May 2008. ISSN 0364-2313 (Print). 0364-2313 (Linking).

KELLY, T. L.; WILSON, K. E.; HEYMSFIELD, S. B. Dual energy X-Ray absorptiometry body composition reference values from NHANES. **PLoS One**, San Francisco**,** v. 4, n. 9, p. e7038, 2009. ISSN 1932-6203.

KHOSLA, S. Leptin-central or peripheral to the regulation of bone metabolism? **Endocrinology,** v. 143, n. 11, p. 4161-4, Nov 2002. ISSN 0013-7227 (Print). 0013-7227 (Linking).

LANNA, C. M. et al. Parathyroid hormone secretion in chronic human endogenous hypercortisolism. In: (Ed.). **Braz J Med Biol Res**. Brazil, v.35, 2002. p.229-36. ISBN 0100-879X (Print).0100-879X (Linking).

LAZARENKO, O. P. et al. Rosiglitazone induces decreases in bone mass and strength that are reminiscent of aged bone. **Endocrinology,** v. 148, n. 6, p. 2669-80, Jun 2007. ISSN 0013-7227 (Print). 0013-7227 (Linking).

LEVEY, A. S. et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. In: (Ed.): Ann Intern Med, v.150, 2009. p.604-12.

LEVY, J. et al. Beta-cell deterioration determines the onset and rate of progression of secondary dietary failure in type 2 diabetes mellitus: the 10-year follow-up of the Belfast Diet Study. **Diabet Med,** v. 15, n. 4, p. 290-6, Apr 1998. ISSN 0742-3071 (Print). 0742-3071 (Linking).

LUKERT, B. P.; RAISZ, L. G. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathogenesis and management. **Ann Intern Med,** v. 112, n. 5, p. 352-64, Mar 1 1990. ISSN 0003-4819 (Print). 0003-4819 (Linking).

MACDONALD, D. J. **MNI-display: Programfor display and segmentation of surfaces andvolumes.**: McConnel Brain Imaging Center,Montreal Neurological Institute 1996.

MALERBA, M. et al. Growth hormone response to growth hormone-releasing hormone is reduced in adult asthmatic patients receiving long-term inhaled corticosteroid treatment. In: (Ed.). **Chest**. United States, v.127, 2005. p.515-21. ISBN 0012-3692 (Print). 0012-3692 (Linking).

MANCINI, T. et al. Cushing's syndrome and bone. **Pituitary**, New York**,** v. 7, n. 4, p. 249-52, 2004. ISSN 1386-341X (Print).1386-341x.

MANELLI, F.; GIUSTINA, A. Glucocorticoid-induced osteoporosis. In: (Ed.). **Trends Endocrinol Metab**. United States, v.11, 2000. p.79-85. ISBN 1043-2760 (Print). 1043-2760 (Linking).

MANNING, P. J.; EVANS, M. C.; REID, I. R. Normal bone mineral density following cure of Cushing's syndrome. **Clin Endocrinol (Oxf),** v. 36, n. 3, p. 229-34, Mar 1992. ISSN 0300-0664 (Print). 0300-0664 (Linking).

MARCUS, R. et al. **Osteoporosis**. Fourth. Waltham: Elsevier, 2013.

MARTIN, A. et al. Leptin modulates both resorption and formation while preventing disuse-induced bone loss in tail-suspended female rats. In: (Ed.). **Endocrinology**. United States, v.146, 2005. p.3652-9. ISBN 0013-7227 (Print). 0013-7227 (Linking).

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia,** v. 28, n. 7, p. 412-9, Jul 1985. ISSN 0012-186X (Print). 0012-186X (Linking).

MCCLOSKEY, E. V. et al. Adjusting fracture probability by trabecular bone score. **Calcif Tissue Int,** v. 96, n. 6, p. 500-9, Jun 2015. ISSN 1432-0827 (Electronic). 0171-967X (Linking).

MCLEAN, R. R. et al. Criteria for clinically relevant weakness and low lean mass and their longitudinal association with incident mobility impairment and mortality: the foundation for the National Institutes of Health (FNIH) sarcopenia project. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, Cary**,** v. 69, n. 5, p. 576-83, May 2014. ISSN 1079-5006.

MEHMOOD, Z.H.; PAPANDREOU, D. An updated mini review of vitamin D and obesity: adipogenesis and inflammation state. **Open Access Maced J Med Sci**, v. 15, n. 4, p. 526-532, Sep 2016. Review.

MINETTO, M. et al. Bone loss is more severe in primary adrenal than in pituitary-dependent Cushing's syndrome. **Osteoporos Int**, London**,** v. 15, n. 11, p. 855-61, Nov 2004. ISSN 0937-941X (Print). 0937-941x.

MIRANDA, W. R. H. et al. Cushing's Disease-Induced Osteoporosis: Evaluation at Diagnosis and Two, Five and Ten years after Hypercortisolism Resolution. In: 33rd

Annual Meeting of The American Society for Bone and Mineral Research. **Journal of Bone and Mineral Research.**, San Diego**,** v. 26, p. S433-S433, 2011.

MIRZA, F.; CANALIS, E. Management of endocrine disease: Secondary osteoporosis: pathophysiology and management. **Eur J Endocrinol,** v. 173, n. 3, p. R131-51, Sep 2015. ISSN 1479-683X (Electronic). 0804-4643 (Linking).

MISRA, M.; KLIBANSKI, A. Anorexia nervosa, obesity and bone metabolism. **Pediatr Endocrinol Rev,** v. 11, n. 1, p. 21-33, Sep 2013. ISSN 1565-4753 (Print). 1565-4753 (Linking).

MONTGOMERY, D. C. ***Design and Analysis of Experiments***. Fifth Edition. New York: John Wiley & Sons, 2000.

MOON, Y. S. et al. Mice lacking paternally expressed Pref-1/Dlk1 display growth retardation and accelerated adiposity. **Mol Cell Biol,** v. 22, n. 15, p. 5585-92, Aug 2002. ISSN 0270-7306 (Print). 0270-7306 (Linking).

MPALARIS, V. et al. Serum leptin, adiponectin and ghrelin concentrations in post-menopausal women: Is there an association with bone mineral density? In: (Ed.). **Maturitas**. Ireland: 2016 Elsevier Ireland Ltd, v.88, 2016. p.32-6. ISBN 1873-4111 (Electronic). 0378-5122 (Linking).

NAPOLI, N. et al. Adiponectin and bone mass density: The InCHIANTI study. **Bone,** v. 47, n. 6, p. 1001-5, Dec 2010. ISSN 1873-2763 (Electronic). 1873-2763 (Linking).

NIEMAN, L. K. Diagnostic tests for Cushing's syndrome. **Ann N Y Acad Sci,** v. 970, p. 112-8, Sep 2002. ISSN 0077-8923 (Print).0077-8923 (Linking).

NIEMAN, L.K. et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 93, n. 5, p. 1526-40, May 2008.

OHMORI, N. et al. Osteoporosis is more prevalent in adrenal than in pituitary Cushing's syndrome. **Endocr J,** v. 50, n. 1, p. 1-7, Feb 2003. ISSN 0918-8959 (Print) 0918-8959 (Linking).

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de Bioestatística**. 2ª edição. São Paulo: 2004.

PAGGIOSI, M. A.; PEEL, N. F.; EASTELL, R. The impact of glucocorticoid therapy on trabecular bone score in older women. In: (Ed.). **Osteoporos Int**. England, v.26, 2015. p.1773-80. ISBN 1433-2965 (Electronic). 0937-941X (Linking).

PEARSON, K. **The Grammar of Science**. London: Walter Scott, 1892. 493.

PEREIRA, R. C.; DELANY, A. M.; CANALIS, E. CCAAT/enhancer binding protein homologous protein (DDIT3) induces osteoblastic cell differentiation. In: (Ed.). **Endocrinology**. United States, v.145, 2004. p.1952-60. ISBN 0013-7227 (Print). 0013-7227 (Linking).

PEREIRA, R. M.; DELANY, A. M.; CANALIS, E. Cortisol inhibits the differentiation and apoptosis of osteoblasts in culture. In: (Ed.). **Bone**. United States, v.28, 2001. p.484-90. ISBN 8756-3282 (Print). 1873-2763 (Linking).

POTHUAUD, L.; CARCELLER, P.; HANS, D. Correlations between grey-level variations in 2D projection images (TBS) and 3D microarchitecture: applications in the study of human trabecular bone microarchitecture. In: (Ed.). **Bone**. United States, v.42, 2008. p.775-87. ISBN 8756-3282 (Print). 1873-2763 (Linking).

PREMAOR, M. O.; COMIM, F. V.; COMPSTON, J. E. Obesity and fractures. In: (Ed.). **Arq Bras Endocrinol Metabol**. Brazil, v.58, 2014. p.470-7. ISBN 1677-9487 (Electronic). 0004-2730 (Linking).

PROVENCHER, S. W. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. **Magn Reson Med,** v. 30, n. 6, p. 672-9, Dec 1993. ISSN 0740-3194 (Print). 0740-3194 (Linking).

REID, I. R.; VEALE, A. G.; FRANCE, J. T. Glucocorticoid osteoporosis. **J Asthma,** v. 31, n. 1, p. 7-18, 1994. ISSN 0277-0903 (Print). 0277-0903 (Linking).

RICHARDS, J. B. et al. Serum adiponectin and bone mineral density in women. In: (Ed.). **J Clin Endocrinol Metab**. United States, v.92, 2007. p.1517-23. ISBN 0021-972X (Print).0021-972X (Linking).

RICHARDS, J. B.; ZHENG, H. F.; SPECTOR, T. D. Genetics of osteoporosis from genome-wide association studies: advances and challenges. In: (Ed.). **Nat Rev Genet**. England, v.13, 2012. p.576-88. ISBN 1471-0064 (Electronic). 1471-0056 (Linking).

RIDDLE, R. C.; CLEMENS, T. L. Insulin, osteoblasts, and energy metabolism: why bone counts calories. **J Clin Invest,** v. 124, n. 4, p. 1465-7, Apr 2014. ISSN 1558-8238 (Electronic). 0021-9738 (Linking).

ROSEN, C. J.; BOUXSEIN, M. L. Mechanisms of disease: is osteoporosis the obesity of bone? In: (Ed.). **Nat Clin Pract Rheumatol**. United States, v.2, 2006. p.35-43. ISBN 1745-8382 (Print).1745-8382 (Linking).

ROUX, J. P. et al. The predictive value of trabecular bone score (TBS) on whole lumbar vertebrae mechanics: an ex vivo study. **Osteoporos Int,** v. 24, n. 9, p. 2455-60, Sep 2013. ISSN 1433-2965 (Electronic). 0937-941X (Linking).

RCORETEAM. **R: a language and environment for statistical computing.** Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2014.URL:http://www.R-project.org/

SCHALL, R. Estimation in generalized linear models with random effects. **Biometrika,** v.78,n.4, p.719-727, 1991. Disponível em: <http://biomet.oxfordjournals.org/content/78/4/719.abstract>.

SILVA, B. C. et al. Trabecular bone score: a noninvasive analytical method based upon the DXA image. **J Bone Miner Res,** v. 29, n. 3, p. 518-30, Mar 2014. ISSN 1523-4681 (Electronic). 0884-0431 (Linking).

SMAS, C. M.; CHEN, L.; SUL, H. S. Cleavage of membrane-associated pref-1 generates a soluble inhibitor of adipocyte differentiation. **Mol Cell Biol,** v. 17, n. 2, p. 977-88, Feb 1997. ISSN 0270-7306 (Print). 0270-7306 (Linking).

SMAS, C. M.; SUL, H. S. Pref-1, a protein containing EGF-like repeats, inhibits adipocyte differentiation. In: (Ed.). **Cell**. United States, v.73, 1993. p.725-34. ISBN 0092-8674 (Print). 0092-8674 (Linking).

SONINO, N. et al. A clinical index for rating severity in Cushing's syndrome. **Psychother Psychosom**, Basel**,** v. 69, n. 4, p. 216-20, Jul-Aug 2000. ISSN 0033-3190 (Print). 0033-3190(Linking).

TAKEDA, S. et al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. In: (Ed.). **Cell**. United States, v.111, 2002. p.305-17. ISBN 0092-8674 (Print). 0092-8674 (Linking).

TAUCHMANOVA, L. et al. Bone demineralization and vertebral fractures in endogenous cortisol excess: role of disease etiology and gonadal status. **J Clin Endocrinol Metab**, Chevy Chase**,** v. 91, n. 5, p. 1779-84, May 2006. ISSN 0021-972X (Print)0021-972x.

THOMAS, T. et al. Leptin acts on human marrow stromal cells to enhance differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. **Endocrinology,** v. 140, n. 4, p. 1630-8, Apr 1999. ISSN 0013-7227 (Print). 0013-7227 (Linking).

TOTH, M.; GROSSMAN, A. Glucocorticoid-induced osteoporosis: lessons from Cushing's syndrome. **Clin Endocrinol (Oxf)**, Chichester**,** v. 79, n. 1, p. 1-11, Jul 2013. ISSN 0300-0664.

TURNER, R. C.; HOLMAN, R. R. Pathophysiology of diabetes. In: (Ed.). **Lancet**. England, v.2, 1976. p.856. ISBN 0140-6736 (Print). 0140-6736 (Linking).

ULIVIERI, F. M. et al. Utility of the trabecular bone score (TBS) in secondary osteoporosis. **Endocrine,** v. 47, n. 2, p. 435-48, Nov 2014. ISSN 1559-0100 (Electronic). 1355-008X (Linking).

VAN DER EERDEN, A. W. et al. Cushing's syndrome and bone mineral density: lowest Z scores in young patients. **Neth J Med**, Alphen aan den Rijn**,** v. 65, n. 4, p. 137-41, Apr 2007. ISSN 0300-2977 (Print). 0300-2977(Linking).

WHITWORTH, J. A. et al. Cardiovascular consequences of cortisol excess. **Vasc Health Risk Manag,** v. 1, n. 4, p. 291-9, 2005. ISSN 1176-6344 (Print).1176-6344 (Linking).

WILLIAMS, G. A. et al. In vitro and in vivo effects of adiponectin on bone. In: (Ed.). **Endocrinology**. United States, v.150, 2009. p.3603-10. ISBN 1945-7170 (Electronic). 0013-7227 (Linking).

WINZENRIETH, R.; MICHELET, F.; HANS, D. Three-dimensional (3D) microarchitecture correlations with 2D projection image gray-level variations assessed by trabecular bone score using high-resolution computed tomographic acquisitions: effects of resolution and noise. In: (Ed.). **J Clin Densitom**. United States: 2013 The International Society for Clinical Densitometry. Published by Elsevier Inc, v.16, 2013. p.287-96. ISBN 1094-6950 (Print). 1094-6950 (Linking).

WU, C. et al. Validation of lateral DXA imaging for assessment of vertebral fractures. **Journal of Bone and Mineral Research,** v. 19, n. S1, p. S295, 2004.

YOSHIDA, S. et al. Endocrine disorders and body fat distribution. **Int J Obes,** v. 15 Suppl 2, p. 37-40, Sep 1991.

ZIEGLER, R.; KASPERK, C. Glucocorticoid-induced osteoporosis: prevention and treatment. In: (Ed.). **Steroids**. United States, v.63, 1998. p.344-8. ISBN 0039-128X (Print). 0039-128X (Linking).

9. ANEXOS

Anexos

Anexo 1 - Dados antropométricos individuais do grupo controle (C)

Voluntários (n= 27)	Sexo	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	IMC (Kg/m^2)	CA (cm)
1	F	22	58,7	1,69	20,6	74,1
2	F	23	42,8	1,57	17,5	63,0
3	F	25	56,3	1,67	20,3	NA
4	F	28	49,5	1,52	21,4	79,0
5	F	28	63,0	1,62	24,0	82,3
6	F	29	48,8	1,64	18,3	65,7
7	F	30	61,0	1,75	19,9	72,5
8	F	36	64,7	1,80	20,0	79,0
9	F	39	71,3	1,65	26,3	NA
10	F	41	66,3	1,61	25,5	85,0
11	F	47	64,3	1,61	24,8	100,0
12	F	48	73,9	1,78	23,3	80,0
13	F	49	66,2	1,60	25,8	86,0
14	F	51	56,9	1,55	23,6	87,5
15	F	21	65,7	1,79	20,5	70
16	F	43	57,4	1,60	22,4	NA
17	F	28	58,9	1,71	20,1	NA
18	F	44	64,5	1,58	25,8	NA
19	F	36	77,0	1,70	26,6	NA
20	F	44	63,0	1,67	25,6	NA
21	F	38	62,0	1,58	24,8	NA
22	F	29	54,0	1,64	20,1	NA
23	F	39	52,0	1,53	22,2	NA
24	F	44	67,0	1,67	24,0	NA
25	F	30	56,0	1,62	21,3	NA
26	F	33	69,0	1,73	23,2	NA
27	F	30	59,0	1,66	21,4	NA
Média		**35,7**	**61,1**	**1,65**	**22,6**	**78,8**
DP		**8,9**	**7,8**	**0,08**	**2,6**	**10,0**

Nota. IMC = Índice de massa corporal; CA = circunferência abdominal; DP = desvio-padrão; NA = não avaliado

Anexo 2 - Dados antropométricos individuais do grupo obeso (O)

Voluntários (n= 16)	Sexo	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	IMC (Kg/m^2)	CA (cm)
1	F	51	70,8	1,56	29,0	88,0
2	F	40	83,5	1,58	33,4	108,0
3	F	50	63,0	1,47	29,1	105,0
4	F	47	65,9	1,50	28,8	103,0
5	F	35	77,6	1,60	30,4	102,0
6	F	53	72,7	1,67	26,0	91,0
7	F	33	83,5	1,66	30,3	NA
8	F	25	96,0	1,66	34,8	NA
9	F	38	80,5	1,60	31,4	NA
10	F	33	67,0	1,56	27,5	NA
11	F	48	72,0	1,62	27,4	NA
12	F	44	80,2	1,57	32,5	NA
13	F	42	73,0	1,52	31,6	NA
14	F	40	92,7	1,53	39,6	NA
15	F	29	106,0	1,63	39,9	NA
16	F	32	121,0	1,71	41,4	NA
Média		**40,0**	**80,3**	**1,59**	**32,1**	**99,5**
DP		**8,4**	**17,1**	**0,07**	**4,7**	**8,1**

Nota. IMC = Índice de massa corporal; CA = circunferência abdominal; DP = desvio-padrão; NA = não avaliado

Anexo 3 - Dados antropométricos individuais do grupo DC

Voluntários (n= 16)	Sexo	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	IMC (Kg/m^2)	CA (cm)
1	F	43	100,9	1,56	41,5	NA
2	F	40	91,2	1,64	33,9	101,0
3	F	34	74,2	1,59	29,4	102,0
4	F	22	99,6	1,65	36,6	112,5
5	F	33	51,0	1,51	22,4	NA
6	F	25	94,3	1,60	36,8	114,0
7	F	50	65,1	1,65	23,9	90,0
8	F	29	96,5	1,67	34,6	108,0
9	F	45	94,3	1,67	33,8	111,0
10	F	47	59,7	1,56	24,5	95,0
11	F	23	93,7	1,65	34,4	117,0
12	F	27	95,8	1,62	36,5	126,0
13	F	31	117,7	1,63	44,3	135,0
14	F	46	87,9	1,60	34,3	126,5
15	F	49	98,3	1,63	37,0	111,0
16	F	55	90,0	1,69	31,5	120,0
Média		**37,4**	**88,1**	**1,62**	**33,5**	**112,1**
DP		**10,7**	**17,2**	**0,05**	**6,0**	**12,5**

Nota. IMC = Índice de massa corporal; CA = circunferência abdominal; DP = desvio-padrão; NA = não avaliado

Anexo 4 - Dados antropométricos individuais na avaliação prospectiva do Pré-op

Pacientes (n= 11)	Sexo	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	IMC (Kg/m^2)	EAC
1	F	43	100,9	1,56	41,5	7
2	F	40	91,2	1,64	33,9	9
3	F	34	74,2	1,59	29,4	8
4	F	33	51,0	1,51	22,4	4
5	F	25	94,3	1,60	36,8	10
6	F	50	65,1	1,65	23,9	6
7	F	29	96,5	1,67	34,6	6
8	F	45	94,3	1,67	33,8	9
9	F	47	59,7	1,56	24,5	6
10	F	27	95,8	1,62	36,5	10
11	F	49	98,3	1,63	37,0	8
Média		**38,4**	**83,8**	**1,61**	**32,2**	**8**
DP		**9,1**	**17,8**	**0,05**	**6,26**	**2**

Nota. IMC = Índice de massa corporal; EAC = escore de atividade clínica da doença; DP = desvio-padrão

Anexo 5 - Dados antropométricos individuais na avaliação prospectiva do 6º mês PO

Pacientes (n= 11)	Sexo	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	IMC (Kg/m^2)	EAC
1	F	43	96,0	1,56	39,4	5
2	F	41	92,3	1,64	36,0	3
3	F	35	58,4	1,59	23,0	1
4	F	33	44,4	1,51	19,4	0
5	F	26	87,2	1,60	34,0	5
6	F	50	59,1	1,65	21,7	3
7	F	31	83,1	1,67	29,8	4
8	F	45	82,9	1,67	29,7	3
9	F	48	48,0	1,56	19,7	3
10	F	NA	NA	NA	NA	NA
11	F	50	89,1	1,63	33,5	6
Média		**40,2**	**74,1**	**1,61**	**28,6**	**3**
DP		**8,5**	**19,4**	**0,05**	**7,2**	**2**

Nota. IMC = Índice de massa corporal; EAC = escore de atividade clínica da doença; DP = desvio-padrão; NA = não avaliado

Anexo 6 - Dados antropométricos individuais na avaliação prospectiva do 12º mês PO

Pacientes (n= 11)	Sexo	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	IMC (Kg/m^2)	EAC
1	F	44	87,8	1,56	36,1	5
2	F	41	94,8	1,64	35,2	4
3	F	36	61,6	1,59	24,3	1
4	F	34	44,9	1,51	19,7	1
5	F	26	95,3	1,60	37,2	3
6	F	51	50,0	1,65	18,4	3
7	F	31	77,9	1,67	27,9	3
8	F	46	84,9	1,67	30,0	4
9	F	NA	NA	NA	NA	NA
10	F	28	79,8	1,62	30,4	5
11	F	50	87,4	1,63	32,8	7
Média		**38,7**	**76,4**	**1,61**	**29,2**	**4**
DP		**9,0**	**18,1**	**0,05**	**6,6**	**2**

Nota. IMC = Índice de massa corporal; EAC = escore de atividade clínica da doença; DP = desvio-padrão; NA = não avaliado

Anexo 7 - Escala para avaliação do Escore de Atividade Clínica da Doença de Cushing

Total: **(0-16 pontos)**	**Observações**
Obesidade Central 0 = normal (IMC<25Kg/m²) 1 = obesidade central leve (IMC: 25-30Kg/m²) 2 = obesidade central acentuada (IMC >30Kg/m²)	
Estrias/Equimoses/Infecções 0 = ausentes 1 = apenas uma das manifestações 2 = duas ou mais manifestações	
Fraqueza Muscular 0 = ausente 1 = de leve a moderada intensidade 2 = de grave intensidade (com incapacidade funcional)	
Distúrbio do Humor 0 = ausente 1 = leve a moderado, sem uso de medicação 2 = grave, com uso de medicação	
Hipertensão 0 = ausente (PA diastólica ≤90mmHg) 1 = leve (PA diastólica entre 90 a 105mmHg ou uso de até dois anti-hipertensivos) 2 = grave (PA diastólica ≥105mmHg ou uso de mais de dois anti-hipertensivos)	
Diabetes 0 = ausente 1 = leve (glicemia <200mg/dL ou uso de até um anti-diabético oral) 2 = grave (glicemia ≥200mg/dL, uso de dois ou mais anti-diabéticos orais ou insulinoterapia)	
Hipocalemia 0 = ausente (K^+>3,4mmol/L) 1 = leve (K^+ entre 3,2 e 3,4mmol/L) 2 = grave (K^+<3,2mmol/L)	
Hirsutismo / Irregularidade Menstrual 0 = ausente 1 = leve (hirsutismo ou queda capilar / irregularidade menstrual) 2 = grave (amenorreia)	

Anexo 8 - Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
HOSPITAL DAS CLÍNICAS FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA
AUTORIZAÇÃO PARA PARTICIPAR EM PROJETO DE PESQUISA

TÍTULO DO ESTUDO: Impacto da Adiposidade da Medula Óssea e da Secreção/Sensibilidade Insulínica na Osteoporose Associada à Doença de Cushing

DATA DO CONSENTIMENTO
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Dr. Sérgio Luchini Batista
NOME DO PACIENTE:

O (a) senhor(a) está sendo convidado para ser voluntário em um estudo de pesquisa clínica. Os estudos de pesquisa clínica incluem apenas pessoas que aceitam participar voluntariamente. A decisão de participação na pesquisa deverá ser feita após o (a) senhor(a) ter pleno conhecimento sobre os riscos e benefícios envolvidos e então tomar um decisão que lhe seja adequada. Este processo é conhecido como consentimento informado. Por favor, reflita para tomar uma decisão.

O (a) senhor(a) está sendo convidado para participar deste estudo porque o (a) senhor(a) preenche os critérios de inclusão da pesquisa.

POR QUE ESTE ESTUDO SERÁ REALIZADO?
Esta pesquisa esta sendo feita para avaliar a Osteoporose que pode ser causa da Doença de Cushing. O objetivo é avaliar quais ossos são principalmente afetados e quais são as alterações que levam a esta doença óssea.

QUANTOS INDIVÍDUOS FARÃO PARTE DESTE ESTUDO CLÍNICO?

Serão recrutados 20 indivíduos, sendo formado por pacientes com Doença de Cushing, os quais serão selecionados no ambulatório de Neuroendocrinologia do HCFMRP-USP.

O QUE ESTÁ ENVOLVIDO NESTE ESTUDO?

Se o (a) senhor(a) participar deste estudo clínico, será colhido uma pequena quantidade de sangue (1-3 colheres de chá ou 5-15ml) de sangue da veia de seu braço. Isto envolve uma picada com agulha na veia do seu braço e coleta de seu sangue em tubos. Esta coleta pode ser realizada quando lhe for conveniente. Também serão feitos exames de radiografia de coluna vertebral para avaliação de fratura sem sintoma desta região, exame de densitometria óssea e de ressonância magnética de corpos vertebrais. Estes exames não causam dor, porém algumas pessoas sentem desconforto em exame de ressonância magnética devido ao ambiente fechado. A quantidade de raio-x emitida nos exames de densitometria óssea e coluna vertebral é pequena pois os aparelhos colimados, isto é são aparelhos feitos para reduzir a exposição a radiação.

QUANTO TEMPO VOCÊ ESTARÁ PARTICIPANDO DESTE ESTUDO DE PESQUISA?

Os exames serão repetidos antes do tratamento cirúrgico específico para a Doença de Cushing e após seis meses da mesma cirurgia. Você será avaliado apenas uma vez por cada exame no pré-operatório e após seis meses da cirurgia.

QUAIS OS RISCOS DESTE ESTUDO DE PESQUISA?

Os riscos neste estudo de pesquisa são relacionados a coleta de sangue da sua veia, coleta de urina e exames de imagem. A picada da agulha pode causar uma dor passageira e o(a) senhor(a) pode poderá ter uma mancha e dor no local por alguns dias. Como referido acima os outros exames não causam dor. Algumas pessoas não suportam ficar em ambiente fechado e por isso não consegue realizar exame de

ressonância magnética. Os exames de radiografia envolvem radiação, mas os aparelhos utilizados são preparados para reduzirem a exposição à radiação.

EXISTEM BENEFÍCIOS EM PARTICIPAR DESTE ESTUDO CLÍNICO?

Não existem benefícios direto para o(a) senhor(a) em participar deste estudo de pesquisa. Porém, sua participação poderá ajudar outros indivíduos no futuro com os resultados e conhecimentos obtidos a partir deste estudo.

QUAIS AS OUTRAS OPÇÕES QUE EXISTEM?

Ao invés de participar deste estudo de pesquisa, o (a) senhor (a) poderá decidir em não participar. Você não tem obrigação em participar e se o (a) senhor (a) decidir por não participar, não terá nenhum efeito sobre qualquer aspecto em atendimento no HC-FMRP.

SOBRE A CONFIDENCIALIDADE?

Esforços serão feitos para manter suas informações pessoais confidenciais. Os resultados dos testes realizados em seu sangue e /ou urina serão mantidos completamente anônimo e confidencial. Os resultados serão mantidos em segurança em computadores protegidos por senha. Todas as informações serão codificadas e nenhum identificador pessoal será armazenado.

QUAIS SÃO OS CUSTOS?

Não existe nenhum custo para o(a) senhor(a) se o(a) senhor(a) participar deste estudo.

O QUE ACONTECERÁ SE EU SOFRER DANOS POR PARTICIPAR NESTE ESTUDO?

Em caso de dano ou doença resultante deste estudo clínico, tratamento de emergência médica está disponível. O Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto não compensará o (a) senhor (a) ou sua companhia de seguro no evento de qualquer dano.

QUAIS SÃO OS MEUS DIREITOS COMO UM PARTICIPANTE?

Fazer parte deste estudo é uma escolha sua. Você pode escolher não participar ou pode deixar de participar do estudo a qualquer momento. Deixar de participar do estudo não resultará em nenhuma penalidade ou perda de benefícios que o (a) senhor (a) tem direito.

PERMISSÃO PARA O USO DOS RESULTADOS DA PESQUISA

POR QUE EU ESTOU SENDO QUESTIONADO PARA LIBERAÇÃO DESTA INFORMAÇÃO?
Como parte deste estudo, o (a) senhor (a) está sendo solicitado(a) a permitir ao Dr. Sérgio Luchini Batista a coletar informação sobre a sua saúde. Esta informação será coletada, listada em um banco de dados com informação de saúde de todos os participantes deste estudo, e analisada para identificar correlações de seus achados com informações de pessoas saudáveis.

O QUE ESTÁ SENDO SOLICITADO PARA LIBERAÇÃO?

Para este estudo, as seguintes informações serão coletadas:
Sua idade e sexo
Seu peso, altura, índice de massa corpórea.
Sua história clínica relacionada a doenças metabólicas e ósseas
Antecedentes pessoais e familiares de doenças osteometabólicas
Todas as medicações que você usa rotineiramente
Freqüência e tipo de exercício físico.

QUEM VERÁ ESTAS INFORMAÇÕES?

Os investigadores envolvidos no estudo terão acesso as suas informações. O Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto ou Agências regulatórias de pesquisa poderão ver partes de seus

dados médicos relatados neste estudo e, portanto, verão seu nome ou outras informações de identificação pessoal sobre o(a) senhor(a). as informações coletas são propriedades do Investigador. No caso de qualquer publicação referente a este estudo, sua identificação não será revelada.

AS INFORMAÇÕES COLETADAS COMO PARTE DESTE ESTUDO SERÃO DESTRUIDAS QUANDO NÃO FOREM MAIS NECESSÁRIAS?

É difícil para o Investigador saber quanto tempo suas informações serão mantidas, mas comumente elas serão mantidas em banco de dados do Investigador por um período de tempo indefinido. Nós não sabemos quando suas informações não serão mais utilizadas, e não existe uma expiração das informações após elas serem descartadas.

EU POSSO INTERROMPER MINHAS INFORMAÇÕES APÓS ELAS COMEÇAREM A SER UTILIZADAS?

Se o(a) senhor (a) deixar o estudo, e não desejar ter mais nenhuma informação pessoal coletada, sobre o(a) senhor(a), deverá notificar por escrito ao Dr. Sérgio Luchini Batista. O(a) senhor(a) poderá também entrar em contato com o Dr. Sérgio Luchini Batista por telefone (16) 36021000 e sua solicitação de interromper a coleta de informações será honrada, mas o(a) senhor(a) deverá também notificar ao Dr. Sérgio Luchini Batista por escrito. Para notificar ao Dr. Sérgio Luchini Batista por escrito, envie sua solicitação para: Dr. Sérgio Luchini Batista, Av. Bandeirantes, 3900, Monte Alegre, Ribeirão Preto SP. Qualquer informação já coletada continuará a ser vista e usada como descrito previamente.

Declaro ter lido ou terem lido para mim as informações acima antes de assinar o termo de consentimento livre esclarecido. Eu concordo em participar deste estudo clínico. Ainda, eu autorizo que as informações colhidas sejam utilizadas para finalidade da pesquisa proposta. Foi-me oferecida ampla oportunidade de informação e questionamento bem como recebi todos os esclarecimentos de dúvidas e pontos questionados.

Eu recebi um cópia deste termo após tê-lo assinado.
Ribeirão Preto, ___/___/_____.

_____ RG:_____
Nome legível do participante e/ou responsável legal.

_____
Assinatura ou impressão dactiloscopia do participante e/ou responsável legal.

Testemunhas:

_____ RG:_____
Nome legível da testemunha

_____
Assinatura da testemunha

_____ RG:_____
Nome legível da testemunha

_____
Assinatura da testemunha

_____
Pesquisador Responsável:
Dr. Sérgio Luchini Batista RG: 43808977-7
Departamento de Clínica Médica, FMRP-USP.
Av. Bandeirantes 3900, Ribeirão Preto, 14049-900, SP, Brasil
Fone: 16 36022934

OBSERVAÇÃO: Documento em duas vias, uma para o paciente, outra para o pesquisador responsável do participante e/ou responsável legal.