

**GLAUCE HIROMI YONAMINE**

**Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea  
de adolescentes com alergia IgE mediada persistente  
ao leite de vaca**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutora em Ciências

Área de concentração: Pediatria

Orientador: Antonio Carlos Pastorino

**São Paulo**

**2023**

**GLAUCE HIROMI YONAMINE**

**Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea  
de adolescentes com alergia IgE mediada persistente  
ao leite de vaca**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutora em Ciências

Área de concentração: Pediatria

Orientador: Antonio Carlos Pastorino

**São Paulo**

**2023**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Yonamine, Glauce Hiromi

Avaliação da densidade mineral e microarquitetura  
óssea de adolescentes com alergia IgE mediada  
persistente ao leite de vaca / Glauce Hiromi  
Yonamine. -- São Paulo, 2023.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.

Programa de Pediatria.

Orientador: Antonio Carlos Pastorino.

Descritores: 1.Adolescente 2.Hipersensibilidade  
a leite 3.Densitometria 4.Densidade óssea  
5.Tomografia computadorizada

USP/FM/DBD-304/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Yonamine GH. Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de adolescentes com alergia IgE mediada persistente ao leite de vaca [doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

Aprovado em:

### Banca Examinadora

Prof

Instituição

Julgamento

Prof

Instituição

Julgamento

Prof

Instituição

Julgamento

# Dedicatória

À minha família, em especial aos meus pais,  
por todo apoio e incentivo para a  
minha formação acadêmica.

# Agradecimentos

Ao meu orientador, Dr Antonio Carlos Pastorino, pela parceria, apoio e confiança neste projeto. Agradeço muito pelos ensinamentos e amizade durante esses anos.

À Dra Rosa Maria Rodrigues Pereira (*in memoriam*), pela oportunidade de realizar esta pesquisa e pelo apoio na concepção e desenvolvimento do projeto.

Ao Dr Diogo Domiciano por aceitar a dar a continuidade na pesquisa e por sua contribuição no meu aprendizado.

À equipe do Laboratório de Metabolismo Ósseo, em especial à Liliam Takayama, por toda a ajuda durante a coleta de dados, ensinamentos e pela amizade durante todos esses anos. Agradeço também à Valéria Caparbo, pelo auxílio na realização deste trabalho.

Ao Serviço de Nutrição e Dietética, pelo apoio na realização deste trabalho. Em especial, agradeço às nutricionistas do ambulatório, Camila, Carla, Larissa, Lenyca e Nicolly pela parceria em todos esses anos.

Ao grupo da alergia e imunologia, pela amizade durante esses anos e por sempre me incentivar a dar o meu melhor. Em especial à Ana Paula Moschione Castro, por todo seu auxílio e incentivo durante esta jornada.

Aos membros da banca examinadora de qualificação, Fabíola Isabel Suano de Souza, Patrícia Zamberlan e Artur Figueiredo Delgado, pelas valiosas contribuições.

À Juliana Caires de Oliveira Achili Ferreira e à Neusa Keico Sakita pelo auxílio na coleta dos exames.

Ao Dr Ulysses Doria Filho, à Karina Helena Canton Viani e ao Braian Souza pelo auxílio com as minhas dúvidas na análise estatística.

Ao Rogério José de Assis, por toda a atenção e informações.

À bibliotecária Mariza Umetzu, pela revisão das referências bibliográficas.

A todos aqueles que me auxiliaram no recrutamento de controles, em especial à Laís, Jussara, Rafaela, Kátia, Ligia, Carla, Dinorá e Vanessa.

Às participantes deste estudo, por dedicar seu tempo e acreditar no meu trabalho.

À minha família e amigos, que estão presentes em todos os momentos, por me apoiar e incentivar.

## RESUMO

Yonamine GH. Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de adolescentes com alergia IgE mediada persistente ao leite de vaca [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

**Introdução:** a alergia às proteínas do leite de vaca (APLV) mediada por imunoglobulina E (IgE) persistente pode acarretar comprometimento da saúde óssea e aumento do risco de fraturas. **Objetivo:** avaliar a saúde óssea de adolescentes com APLV IgE mediada persistente em tratamento dietético prolongado. **Método:** estudo observacional, com corte transversal, envolvendo adolescentes do sexo feminino, entre 10 e 18 anos de idade, com APLV IgE mediada persistente e um grupo comparação de indivíduos saudáveis emparelhados por sexo e maturação sexual. Foram coletados dados demográficos, clínicos, antropométricos e alimentares. A saúde óssea foi avaliada pela densidade mineral óssea areal (aDMO) por absorciometria de dupla emissão de raios-x (DXA), microarquitetura óssea por tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) e marcadores laboratoriais relacionados ao metabolismo ósseo: cálcio total e ionizável, fósforo, fosfatase alcalina, proteína total, albumina, cortisol, paratormônio, 25 hidroxivitamina D, propeptídeo do procólágeno tipo 1 e telopeptídeo carboxiterminal do colágeno tipo 1. **Resultados:** Foram incluídas 26 adolescentes com APLV IgE mediada persistente e 28 controles saudáveis. Não houve diferença entre os grupos em relação à idade, peso, estatura, índice de massa corporal, estadiamento puberal, raça e atividade física avaliada pela contagem de passos. A análise do registro alimentar de 24 horas demonstrou que o grupo com APLV IgE mediada persistente ingeriu menor quantidade de cálcio ( $p=0,012$ ) e fósforo ( $p=0,009$ ) na dieta. Em relação aos exames laboratoriais, houve diferença entre os grupos quanto à alteração dos níveis de cortisol ( $p=0,016$ ). Adolescentes com APLV IgE mediada persistente em dieta de exclusão total ( $n=12$ ) apresentaram maior comprometimento da saúde óssea em comparação com aquelas em dieta de exclusão parcial ( $n=14$ ), com menor conteúdo mineral ósseo (CMO) de fêmur total ( $p=0,018$ ), aDMO do fêmur total ( $p=0,034$ ), escore do osso trabecular (TBS) de coluna lombar ( $p=0,010$ ), densidade mineral óssea (DMO) volumétrica total da tíbia ( $p=0,021$ ) e espessura cortical da tíbia ( $p=0,015$ ). Comparado com controles, as adolescentes com APLV IgE mediada persistente apresentaram menor CMO e aDMO de coluna lombar e corpo inteiro, além de menor resistência óssea na região da tíbia distal ( $p<0,05$ ). Uma subanálise com emparelhamento dos grupos pela presença de menarca demonstrou menor DMO volumétrica total e trabecular, espessura cortical e resistência óssea na região da tíbia e rádio ( $p<0,05$ ) entre as adolescentes com APLV IgE mediada persistente quando comparadas com controles saudáveis. **Conclusão:** as adolescentes com APLV IgE mediada persistente apresentaram comprometimento da saúde óssea (menor aDMO, prejudicada microarquitetura trabecular e menor resistência óssea) em relação aos controles saudáveis. As adolescentes em dieta de exclusão parcial apresentaram melhor saúde óssea do que as adolescentes em dieta de exclusão total.

**Palavras-chave:** Adolescente. Hipersensibilidade a leite. Densitometria. Densidade óssea. Tomografia computadorizada.

## ABSTRACT

Yonamine GH. Assessment of mineral density and bone microarchitecture in adolescents with persistent IgE mediated cow's milk allergy [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2023.

**Introduction:** Persistent Immunoglobulin E (IgE) mediated cow's milk allergy (CMA) may compromise bone health and increase the risk of fractures. **Objective:** To assess bone health in adolescents with persistent IgE-mediated CMA on prolonged dietary treatment. **Method:** Observational, cross-sectional study with female adolescents, with ages between 10 and 18 years, with persistent IgE mediated CMA and a comparison group of healthy individuals matched by sex and sexual maturation. Demographic, clinical, anthropometric and dietary data were collected. Bone health was assessed by areal bone mineral density (aBMD) through dual X-ray absorptiometry (DXA), bone microarchitecture by high-resolution peripheral quantitative computed tomography (HR-pQCT) and laboratory markers related to bone metabolism: total and ionizable calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, total protein, albumin, cortisol, parathyroid hormone, 25-hydroxy vitamin D, type 1 procollagen propeptide and type 1 collagen carboxyterminal telopeptide. **Results:** Twenty-six adolescents with persistent IgE mediated CMA and 28 healthy controls were included. There was no difference between the groups regarding age, weight, height, body mass index, pubertal stage, race and physical activity, as assessed by pedometer. An analysis of the 24-hour food record showed that the group with persistent IgE mediated CMA ingested less calcium ( $p=0.012$ ) and phosphorus ( $p=0.009$ ) through the diet. Regarding laboratory tests, there was a difference between the groups in terms of changes in cortisol levels ( $p=0.016$ ). Adolescents with persistent IgE mediated CMA on a total exclusion diet ( $n=12$ ) showed greater impairment of bone health compared to those on a partial exclusion diet ( $n=14$ ), with lower total hip bone mineral content (BMC) ( $p=0.018$ ), total hip aBMD ( $p=0.034$ ), trabecular bone score (TBS) at lumbar spine ( $p=0.010$ ), total volumetric BMD at tibia ( $p=0.021$ ) and cortical thickness at tibia ( $p=0.015$ ). Compared with controls, adolescents with persistent IgE mediated CMA presented lower BMC and aBMD at lumbar spine and total body less head as well as lower bone strength at distal tibia ( $p<0.05$ ). Pairing of groups by the presence of menarche showed lower total and trabecular volumetric BMD, cortical thickness and bone strength at tibia and radius ( $p<0.05$ ) among adolescents with persistent IgE mediated CMA when compared to healthy controls. **Conclusion:** Adolescents with persistent IgE mediated CMA showed compromised bone health (lower aBMD, impaired trabecular microarchitecture and lower bone strength) compared to healthy controls. Adolescents on a partial restriction diet showed better bone health than adolescents on a total exclusion diet.

**Keywords:** Adolescent. Milk hypersensitivity. Densitometry. Bone density. Bone microarchitecture. Computed tomography.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Posicionamento da paciente para a realização da densitometria óssea – laboratório de investigação médica 17 (LIM17).....	22
Figura 2 - Resultado de exame de densitometria óssea de coluna lombar.....	23
Figura 3 - Escore do osso trabecular da coluna lombar avaliado por <i>software</i> TBS .	25
Figura 4 - Relatório do TBS.....	25
Figura 5 - Tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) com o posicionamento do braço da paciente no equipamento – LIM17 .....	27
Figura 6 - Microarquitetura óssea da tíbia e do rádio .....	27
Figura 7 - Teste de compressão virtual feito pelo <i>software</i> do elemento finito.....	28
Figura 8 - Fluxograma de seleção dos pacientes.....	47
Figura 9 - Fluxograma de seleção dos controles.....	48

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Interpretação da densitometria óssea em crianças e adultos .....	24
Quadro 2 - Valores de referência de TBS para o sexo feminino de acordo com estágio puberal de Tanner .....	26
Quadro 3 - Parâmetros ósseos obtidos pela HR-pQCT .....	44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tipo atual e tempo de dieta de exclusão de LV .....	49
Tabela 2 - Diferença entre pacientes com dieta de exclusão total e parcial.....	50
Tabela 3 - Características demográficas, antropométricas e clínicas dos casos e controles.....	51
Tabela 4 - Ingestão de nutrientes de casos e controles .....	52
Tabela 5 - Conteúdo mineral ósseo (CMO), densidade mineral óssea areal (aDMO) e escore do osso trabecular (TBS) obtidos pela densitometria óssea (DXA) dos casos e controles.....	54
Tabela 6 - Parâmetros de microarquitetura óssea região da tíbia e rádio dos casos e controles.....	55
Tabela 7 - Características demográficas, antropométricas e clínicas dos casos e controles considerando a presença de menarca.....	57
Tabela 8 - Ingestão de nutrientes de casos e controles considerando a presença de menarca .....	58
Tabela 9 - Conteúdo mineral ósseo (CMO), densidade mineral óssea areal (aDMO) e escore do osso trabecular (TBS) obtidos pela densitometria óssea (DXA) dos casos e controles considerando a presença de menarca.....	59
Tabela 10 - Parâmetros de microarquitetura óssea região da tíbia e rádio dos casos e controles considerando a presença de menarca.....	60

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

25-OHD	25 hidróxi-vitamina D
aDMO	Densidade mineral óssea areal
APLV	Alergia às proteínas do leite de vaca
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CMO	Conteúdo mineral ósseo
CROSS	Central de Regulação de Oferta de Serviços de Saúde
Ct.Po	Porosidade cortical ( <i>cortical porosity</i> )
Ct.Th	Espessura cortical ( <i>cortical thickness</i> )
Ct.vBMD	Densidade mineral óssea volumétrica cortical ( <i>cortical volumetric bone mineral density</i> )
CTX	Telo-peptídeo carboxiterminal do colágeno tipo 1
DMO	Densidade mineral óssea
DP	Desvios-Padrão
DXA	Dupla emissão de raios-x ( <i>Dual X-ray absorptiometry</i> )
F. Load	Estimativa da carga máxima suportada ( <i>Failure Load</i> )
FE	Elemento Finito ( <i>Finite element</i> )
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HA	Hidroxiapatita
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HR-pQCT	Tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução ( <i>High resolution peripheral quantitative computed tomography</i> )
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICr-HCFMUSP	Instituto da Criança e do Adolescente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IgE	Imunoglobulina E
IMC	Índice de massa corporal
kN	Kilonewton

LIM 17	Laboratório de Investigação Médica - 17
LV	Leite de vaca
N	Newton
P1NP	Propetideo do procolágeno tipo 1
PTH	Paratormônio
S	Rigidez do tecido ( <i>Stiffness</i> )
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
Tb.N	Número de trabéculas ( <i>trabecular number</i> )
Tb.Sp	Separação trabecular ( <i>trabecular separation</i> )
Tb.Th	Espessura trabecular ( <i>trabecular thickness</i> )
Tb.vBMD	Densidade mineral óssea volumétrica trabecular ( <i>trabecular volumetric bone mineral density</i> )
TBS	Escore do osso trabecular ( <i>trabecular bone score</i> )
TCHI	Teste cutâneo de Hipersensibilidade imediata
Tt.vBMD	Densidade mineral óssea volumétrica total ( <i>total volumetric bone mineral density</i> )
VET	Valor energético total
USP	Universidade de São Paulo

# SUMÁRIO

1. Introdução .....	18
1.1 Métodos de avaliação da saúde óssea .....	21
1.1.1 Biomarcadores do metabolismo ósseo.....	21
1.1.2 Densitometria óssea.....	22
1.1.3 Escore do osso trabecular.....	24
1.1.4 Tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) .....	26
1.2 Avaliação da saúde óssea em crianças em adolescentes com APLV	28
1.3 JUSTIFICATIVA .....	31
1.4 HIPÓTESE .....	33
2. Objetivos .....	35
2.1 Objetivo geral .....	36
2.2 Objetivos específicos.....	36
3. Métodos .....	37
3.1 Desenho do estudo .....	38
3.2 Local do estudo .....	38
3.2.1 Sistematização de atendimento nutricional .....	38
3.3 Amostra .....	39
3.4 Aspectos éticos .....	40
3.5 Coleta de dados .....	40
3.5.1 Avaliação laboratorial .....	42
3.5.2 Densidade mineral óssea areal, densidade mineral óssea volumétrica e microarquitetura óssea .....	43
3.6 Análise dos dados .....	44
3.7 Orçamento.....	45

4.	Resultados .....	46
4.1	Caracterização da amostra .....	47
4.2	Descrição dos casos .....	49
4.3	Avaliação dos casos vs controles.....	50
4.3.1	Avaliação dos casos vs controles de acordo com a presença de menarca .....	56
5.	Discussão.....	61
6.	Conclusões .....	70
7.	Anexos .....	72
8.	Referências .....	100

# **1. INTRODUÇÃO**

A alergia às proteínas do leite de vaca (APLV) corresponde a uma reação adversa reprodutível e com envolvimento do sistema imunológico, podendo ser relacionada ou não a mecanismo mediado pela Imunoglobulina E (IgE) (Solé et al. 2018a). Sua prevalência parece estar aumentando e estima-se que a APLV acometa entre 2 e 3% das crianças (Luyt et al. 2014). A história natural depende de diversos fatores, com prognóstico favorável para tolerância. Entretanto, estudos mais recentes demonstram mudança no perfil da APLV para a persistência dos sintomas até o início da idade adulta, especialmente quando a manifestação clínica envolve o mecanismo imunológico mediado pela IgE (Solé et al. 2018b, Koike et al. 2018; Topal et al. 2019; Mehaudy et al. 2022).

O tratamento habitual e mais largamente utilizado consiste na completa eliminação de leite de vaca (LV) e derivados. Ao remover o LV da dieta é fundamental seguir uma dieta adequada nutricionalmente, o que inclui a escolha da sua substituição, pois o LV é fonte de proteína de alto valor biológico, minerais (em especial cálcio e fósforo, mas também potássio, magnésio, zinco e selênio), vitaminas do complexo B (riboflavina e vitamina B<sub>12</sub>) e vitaminas lipossolúveis (por exemplo, vitamina A e E) (Marangoni et al. 2019).

Em menores de dois anos recomenda-se manter o aleitamento materno, sempre que possível. Na impossibilidade de aleitamento materno, uma fórmula especial substituta deve ser utilizada, de acordo com as manifestações clínicas. Após os dois anos de idade, bebidas vegetais alternativas podem ser utilizadas, se toleradas. Especialmente as bebidas à base de soja enriquecidas com cálcio apresentam composição nutricional com maior semelhança à do LV. Atenção especial ao consumo de cálcio deve ser dada e, sempre que necessário, a suplementação medicamentosa deve ser realizada (Groetch e Nowak-Wegrzyn 2013; Vanga e Raghavan 2018).

Devido à maior persistência e gravidade da APLV IgE mediada, novas opções terapêuticas têm sido propostas nos últimos anos, como a avaliação de tolerância à LV submetido a altas temperaturas e o tratamento de imunoterapia para LV (Solé et al. 2018b; Mehaudy et al. 2022; Brokek et al, 2022).

Diversos estudos demonstraram que cerca de 75% dos indivíduos com APLV IgE mediada conseguem tolerar preparações com LV submetido a altas temperaturas, do inglês *baked*, como bolo e *muffin*. Essa tolerância ocorre pela

modificação da proteína do LV após o aquecimento por determinado tempo e temperatura, além do efeito da matriz de trigo, pela interação entre proteínas, gorduras e açúcares, favorecendo a diminuição da sua alergenicidade. A liberação dessas preparações visa reduzir as restrições dietéticas e melhorar a qualidade de vida. Alguns estudos sugerem que o consumo da dieta *baked* poderia acelerar a aquisição de tolerância, mas este fato ainda não está comprovado (Mehaudy et al. 2022).

Existem diferentes tipos de imunoterapia, sendo que a imunoterapia oral é a mais estudada e indicada. Esta tem por objetivo aumentar o limiar de tolerância e diminuir ou eliminar o risco de reações. Deve ser realizada em centros especializados e está indicada para casos graves, acima de 4 anos, com baixa perspectiva de tolerância natural. O tratamento consiste em uma fase de indução (administração de doses mínimas do LV e aumento progressivo da dose até atingir uma dose máxima tolerada) e uma fase de manutenção (consumo diário da dose tolerada). A exposição regular e contínua ao LV garante a modulação do sistema imunológico para a ausência de reações, estado conhecido como dessensibilização (Brozek et al, 2022; Mehaudy et al. 2022).

Independentemente do tipo de tratamento, é aconselhável que os pacientes com APLV sejam acompanhados por nutricionista para garantir a adesão ao tratamento e prevenir deficiências nutricionais, pois mesmo com liberação parcial do consumo de LV ou de preparações contendo LV, este consumo ainda poderá estar abaixo do recomendado para a faixa etária (Luyt et al. 2014).

Devido à sua composição, em especial ao conteúdo de cálcio, o LV é considerado alimento importante para a formação óssea. A baixa massa óssea é um dos principais fatores de risco para a osteoporose e sabe-se que a massa óssea na vida adulta depende do pico de massa óssea adquirida durante o crescimento (Pereira 2014). Estudos em pediatria demonstraram a relação entre restrição total ou parcial de LV e derivados (em consequência de preferência ou condições de saúde) com o comprometimento da saúde óssea (Infante e Tormo 2000; Black et al. 2002; Rockell et al. 2005).

Além da dieta, sabe-se que existem outros fatores que interferem na densidade mineral óssea (DMO) como atividade física, composição corporal, estadiu puberal, sexo, genética e raça. Entre crianças e adolescentes, os meninos

apresentam maior conteúdo mineral ósseo (CMO) e DMO do que as meninas. Estas diferenças se tornam mais acentuadas com o início e progressão da puberdade (Weaver et al. 2016). Devido à diferença entre os sexos, deve-se levar em conta esse fator na análise das pesquisas sobre saúde óssea (Bierhals et al. 2019).

Ainda não existe consenso quanto à avaliação da saúde óssea em crianças com alergia alimentar (Doulgeraki et al.2017). Podem ser utilizados biomarcadores do metabolismo ósseo e exames de imagem (Bailey et al 2019), os quais serão detalhados a seguir.

## **1.1 Métodos de avaliação da saúde óssea**

### **1.1.1 Biomarcadores do metabolismo ósseo**

Uma avaliação básica do perfil ósseo consiste na determinação dos níveis séricos de cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, 25 hidroxivitamina D (25-OHD) e paratormônio (PTH) (Doulgeraki et al.2017).

A remodelação óssea corresponde a um processo fisiológico, em que o osso velho é reabsorvido e o osso novo é formado e mineralizado (Pedro et al., 2021). Existem diversos biomarcadores no sangue e na urina para avaliar a remodelação óssea. Estes exames apresentam a vantagem de serem não invasivos, de relativo baixo custo e permitir determinar mudanças na formação e reabsorção óssea (Bailey et al. 2019).

O propeptídeo do procolágeno tipo 1 (P1NP) é um marcador de formação óssea e reflete a atividade dos osteoblastos. Estes correspondem às células responsáveis pela síntese dos componentes orgânicos da matriz óssea, sendo o colágeno tipo 1 o seu principal constituinte. A concentração de P1NP é diretamente proporcional à quantidade de colágeno novo depositado durante a formação óssea (Bailey et al. 2019).

O telopeptídeo carboxiterminal do colágeno tipo 1 (CTX) é um marcador de reabsorção óssea e reflete a atividade dos osteoclastos. Estas células são responsáveis pela desmineralização e degradação da matriz óssea (Bailey et al. 2019).

### 1.1.2 Densitometria óssea

A densitometria óssea por absorciometria com raios-x de dupla energia (dual-energy X-ray absorptiometry, DXA) corresponde a um procedimento radiológico (**Figura 1**) utilizado para avaliação da DMO. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, é considerado o padrão-ouro para um diagnóstico não invasivo de osteoporose em adultos (Pedro et al., 2021).

**Figura 1 - Posicionamento da paciente para a realização da densitometria óssea – laboratório de investigação médica 17 (LIM17)**

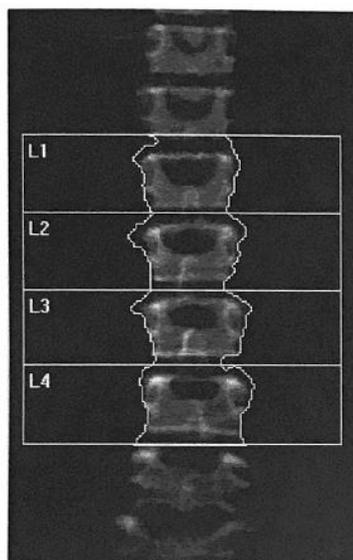


Fonte: LIM 17 (fotografia de autoria própria)

Trata-se de um exame bidimensional que determina o CMO em gramas e a densidade mineral óssea areal (aDMO) em gramas de mineral por centímetro quadrado (g/cm<sup>2</sup>). (Pedro et al., 2021) (**Figura 2**). Em adultos, recomenda-se avaliar coluna lombar (L1-L4), colo femoral e fêmur total. Já em crianças, a DXA deve ser realizada na coluna lombar e no corpo inteiro (sem a cabeça) (Sociedade Brasileira de Pediatria, 2018; Crabtree et al. 2014).

Os resultados também são comparados com uma população de referência, expressos em T-score ou Z-score e interpretados de acordo com a idade (Pedro et al., 2021), conforme ilustrado no **Quadro 1**. Para crianças e adolescentes, atualmente não se recomenda utilizar o termo osteopenia, sendo utilizado o termo baixa DMO para idade (Sociedade Brasileira de Pediatria, 2018).

**Figura 2 - Resultado de exame de densitometria óssea de coluna lombar**



**DXA Results Summary:**

Region	Area (cm <sup>2</sup> )	BMC (g)	BMD (g/cm <sup>2</sup> )	T-score	PR (%)	Z-score	AM (%)
L1	9.17	3.95	0.431				
L2	9.54	4.87	0.510				
L3	9.33	5.03	0.539				
L4	11.22	6.40	0.570				
<b>Total</b>	<b>39.26</b>	<b>20.25</b>	<b>0.516</b>			<b>-2.8</b>	<b>62</b>

Fonte: LIM-17

**Quadro 1 - Interpretação da densitometria óssea em crianças e adultos**

Faixa etária	Critérios diagnósticos	Classificação
Adultos (mulheres em menopausa e homens > 50 anos)	DMO $\geq$ -1DP (T-escore)	Normal
	DMO entre -1,01 e -2,49 DP (T-escore)	Osteopenia
	DMO igual ou inferior a -2,5 DP (T-escore)	Osteoporose
	DMO igual ou inferior a -2,5 DP (T-escore) associada a uma ou mais fraturas patológicas	Osteoporose grave
Adultos (mulheres na pré-menopausa e homens)	DMO > -2 DP (Z-escore)	Normal
	DMO igual ou inferior a -2,0 DP (Z-escore)	Baixa DMO para idade
	Baixa DMO + causa secundária (ex.: corticoterapia crônica)	Osteoporose
Crianças e adolescentes	DMO igual ou inferior a -2,0 DP (Z-escore)	Baixa DMO para idade
	Uma ou mais fraturas de compressão vertebral na ausência de trauma de alto impacto e de doenças na coluna (não é necessário a DMO), ou Baixa DMO + duas ou mais fraturas de ossos longos até os 10 anos, ou Baixa DMO + três ou mais fraturas de ossos longos até os 19 anos	Osteoporose

DMO: densidade mineral óssea; DP: desvio-padrão

T-escore: número de desvios-padrão abaixo ou acima da média de uma população de referência, do mesmo sexo e etnia, no pico da massa óssea (20-30 anos).

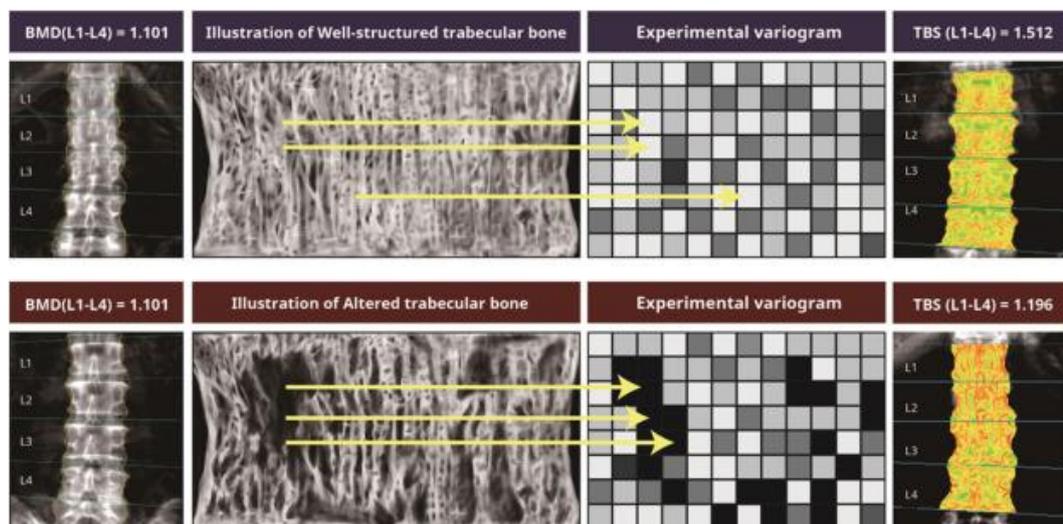
Z-escore: número de desvios-padrão abaixo ou acima da média de uma população de referência da mesma idade, sexo e etnia.

**Fonte:** Adaptado de Sociedade Brasileira de Pediatria, 2018.

### 1.1.3 Escore do osso trabecular

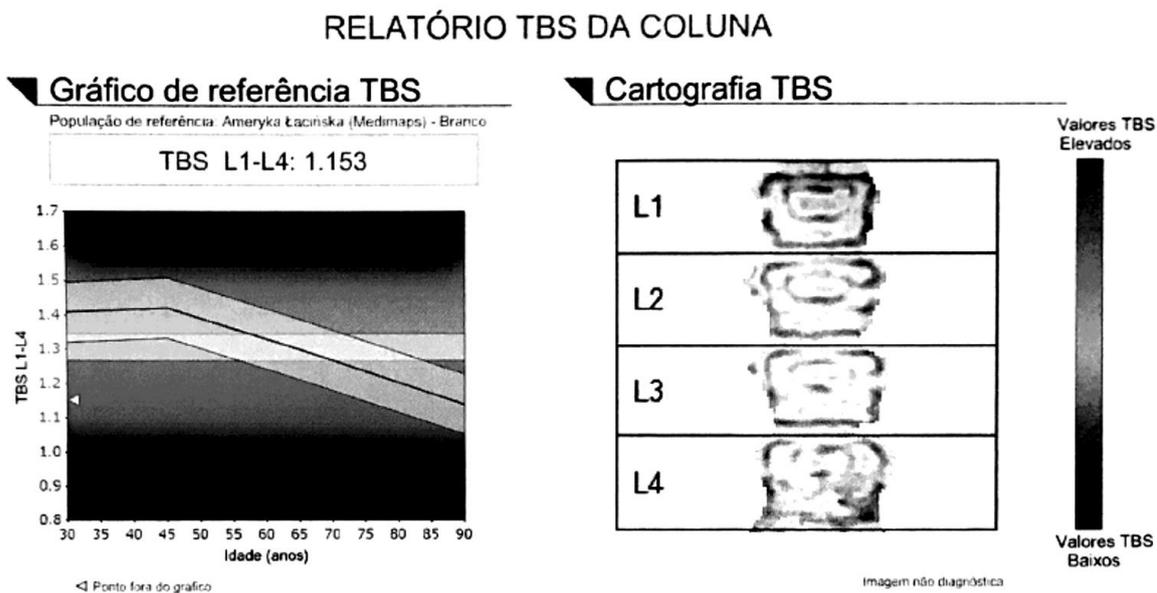
O escore do osso trabecular (TBS) é um exame obtido também no DXA (Silva & Bilezikian 2014). Este é um escore de avaliação da qualidade do osso trabecular, que estima a microarquitetura óssea a partir da imagem do DXA da coluna lombar e está associado com os resultados de microarquitetura trabecular e resistência óssea obtida pela tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (high resolution peripheral quantitative computed tomography, HR-pQCT) (Silva & Bilezikian 2014, Shevroja et al. 2017). O TBS pode ser diferente para valores semelhantes de aDMO (Choi e Chung 2016). (**Figuras 3 e 4**).

Figura 3 - Escore do osso trabecular da coluna lombar avaliado por software TBS



Fonte: Choi e Chung 2016

Figura 4 - Relatório do TBS



Fonte: LIM 17

Um valor baixo de TBS está associado com pior estrutura do osso, enquanto valores altos de TBS estão associados com melhor estrutura óssea (Silva & Bilezikian 2014, Shevroja et al. 2017).

Kalkwarf et al. (2022) recentemente propuseram valores de referência de TBS para crianças e adolescentes entre 5 e 20 anos de idade, de acordo com sexo, idade ou estágio puberal. O **Quadro 2** ilustra os valores de referência para o sexo feminino de acordo com o estágio puberal de mamas proposto por Marshall e Tanner (1969).

**Quadro 2 - Valores de referência de TBS para o sexo feminino de acordo com estágio puberal de Tanner**

Estágio puberal (mamas)	Mediana	Média	Desvio-padrão
1	1,206	1,207	0,083
2	1,212	1,216	0,077
3	1,259	1,260	0,087
4	1,344	1,341	0,095
5	1,428	1,426	0,083

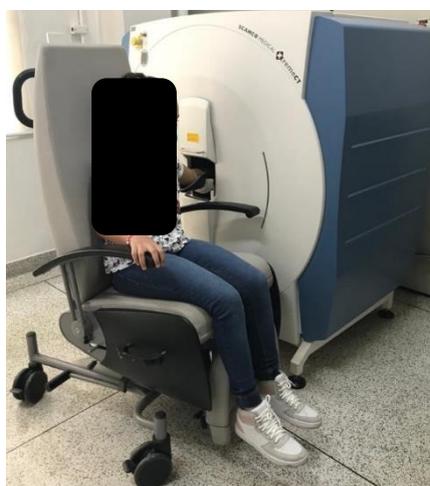
Fonte: Kalkwarf et al. (2022).

**1.1.4 Tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT)**

A HR-pQCT é uma tecnologia relativamente nova e restrita ao ambiente de pesquisa científica. A máquina comercialmente disponível, a XtremeCT (Scanco Medical AG, Brüttisellen, Suíça), avalia o rádio e tíbia distais (**Figura 5**). São obtidas 110 imagens seccionais, em cerca de 3 minutos, possibilitando produzir um modelo tridimensional de alta qualidade e obter informações isoladas referentes aos dois principais compartimentos ósseos: o osso cortical e o trabecular (Fuller et al., 2015; Bailey et al. 2019). O osso cortical corresponde à camada compacta de revestimento e o osso trabecular corresponde à estrutura esponjosa interna (Pedro et al., 2021). (**Figura 6**).

Esse exame permite realizar análises complementares à DXA, por auxiliar na predição do risco de fraturas, já que este risco também está associado com outros parâmetros ósseos que levam à diminuição da resistência do osso, como afilamento das trabéculas ósseas e perda de conectividade, além de aumento da porosidade e diminuição da espessura cortical (Fuller et al. 2015; Pedro et al., 2021).

**Figura 5 - Tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) com o posicionamento do braço da paciente no equipamento – LIM17**



Fonte: LIM 17 (fotografia de autoria própria)

**Figura 6 - Microarquitetura óssea da tíbia e do rádio**

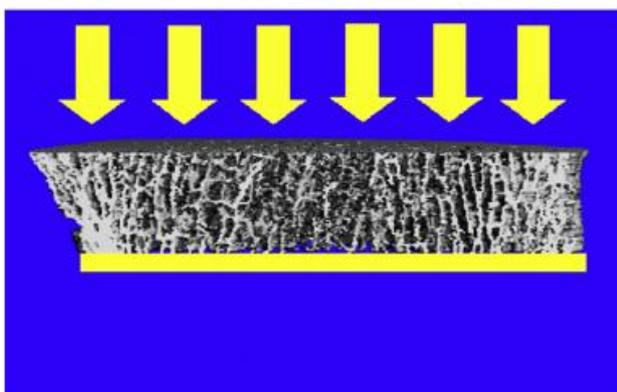


Fonte: resultado de exame obtido no LIM 17

O grupo de estudos do LIM17 estabeleceu curvas de referência de HR-pQCT para a população brasileira adulta do sexo feminino (Alvarenga et al. 2017) e masculino (Alvarenga et al. 2022). Ainda não estão bem estabelecidos os parâmetros de normalidade para a população pediátrica.

Os dados obtidos pela HR-pQCT permitem estimar quantitativamente e qualitativamente as propriedades biomecânicas do osso, por meio de um método denominado elemento finito. A análise consiste em um teste virtual de resistência óssea (**Figura 7**) após ser submetido a uma força compressiva ao longo do seu maior eixo. Com isso, é possível determinar a rigidez do tecido e a estimativa da carga máxima suportada, verificando a capacidade do osso de resistir a fraturas (Fuller et al. 2015; Pedro et al., 2021).

**Figura 7 - Teste de compressão virtual feito pelo software do elemento finito**



Fonte: Fuller et al. 2015.

## **1.2 Avaliação da saúde óssea em crianças em adolescentes com APLV**

Existem poucos estudos na literatura que avaliam a saúde óssea em pacientes com APLV, tanto em crianças como em adolescentes (Hidvégi et al. 2003; Jensen et al. 2004; Konstantynowicz et al. 2007; Nachshon et al. 2014; Maihlot et al. 2016).

Hidvégi et al (2003) avaliaram a aDMO na região do terço distal do rádio de 27 crianças com história de APLV, entre 3 e 8 anos de idade. Do total de pacientes, 20 estavam tolerantes no momento do estudo e haviam realizado dieta de exclusão por 6 a 24 meses (média de 11,8 meses); e 7 pacientes permaneciam alérgicos,

com tempo de dieta de exclusão variando de 24 a 51 meses (média de 37,9 meses) até o momento do estudo. Os autores verificaram que 10 dos 27 pacientes apresentaram diminuição da aDMO; destes 10 pacientes, 8 apresentaram Z-escore entre -1,0 e -2,0 Desvios-Padrão (DP) e 2 apresentaram Z-escore < -2 DP.

No estudo de Jensen et al. (2004) foram avaliados 9 crianças e adolescentes com APLV, entre 8 e 17 anos de idade, com diagnóstico há mais de 4 anos, em dieta de exclusão total de LV. O consumo médio de cálcio foi de 217 mg/dia (variação: 79-482), correspondendo a apenas 25% do recomendado. Tanto o Z-escore do CMO como da aDMO de corpo inteiro estavam significativamente reduzidos (-1,53 e -1,65 DP; respectivamente) ao comparar com dados locais de referência de crianças e adolescentes saudáveis. Os autores afirmaram que a redução do CMO ocorreu, principalmente, devido à menor estatura (indicando menor tamanho ósseo) e, possivelmente, à mineralização reduzida.

Konstantynowicz et al. (2007), em estudo caso-controle, avaliaram a associação entre realização de dieta isenta de LV devido à APLV (fator de risco) e ocorrência de fratura (desfecho). Os casos corresponderam a 57 meninos e 34 meninas, entre 2,5 e 20 anos, com histórico de uma ou mais fraturas, sendo que 22,8% dos meninos e 29,4% das meninas foram expostos à dieta isenta de LV. Os controles, randomizados por idade e sexo, corresponderam a 171 meninos e 102 meninas, sem histórico de fraturas (18,7% dos meninos e 11,8% das meninas expostos à dieta de exclusão de LV). Houve associação significativa da dieta de exclusão e fraturas em meninas, sendo que a razão de chances para fratura associada à dieta de exclusão de LV foi de 4,6. Não houve diferença quanto à aDMO de coluna lombar e corpo inteiro. Apesar dos resultados, não foi possível determinar se a dieta ou a doença foram responsáveis pelo aumento do risco de fraturas.

Estudo mais recente avaliou a aDMO da coluna lombar de 52 crianças pré-púberes com APLV IgE mediada em comparação com 29 controles. As crianças com APLV apresentaram Z-escore de aDMO significativamente inferior do que os controles. Baixa aDMO (Z-escore  $\leq$  - 2DP) foi detectada em 6% do grupo com APLV em comparação com nenhum dos controles (Maihlot et al. 2016).

Em outro estudo, Nachshon et al. (2014) avaliaram o efeito da dieta de exclusão em 33 adultos jovens (entre 16 e 30 anos) com APLV IgE mediada.

Medidas densitométricas (médias de T-escore e Z-escore) de quadril, colo do fêmur e coluna lombar dos pacientes foram significativamente inferiores em comparação com o grupo controle ( $p < 0,0001$ ). T-escore abaixo de  $-2,5DP$ , identificando osteoporose, foi encontrado em 27% dos pacientes com APLV, mas em nenhum dos controles ( $p = 0,0071$ ). Em continuidade a este estudo, os pesquisadores avaliaram os fatores de risco associados com redução da aDMO em pacientes com APLV IgE mediada. Um total de 78 pacientes foi avaliado, sendo que 77% apresentaram Z-escore de aDMO alterados ( $< -1.0$  em T- e Z-escore de qualquer região avaliada) e 23% apresentaram aDMO normal ( $\geq -1.0$  em todas as medidas de T- e Z-escore). Verificou-se que, no contexto do baixo consumo de cálcio, a presença de asma e baixo Z-escore de peso foram fatores de risco independentes para a redução da aDMO em pacientes com APLV IgE mediada (Goldberg et al. 2018).

Os resultados destes estudos indicam que há risco de diminuição da aDMO em pacientes com APLV e que o sexo feminino esteve associado com maior ocorrência de fraturas do que o sexo masculino.

## **1.3 JUSTIFICATIVA**

Ainda não existem estudos envolvendo pacientes com APLV que utilizam a avaliação da saúde óssea por HR-pQCT e TBS.

Em vista da importância da APLV em pacientes pediátricos brasileiros, do aumento da sua persistência até a adolescência e da falta de estudos que avaliem a saúde óssea destes pacientes, este estudo foi realizado.

## **1.4 HIPÓTESE**

Este estudo tem como hipótese que o tratamento dietético da APLV IgE mediada com exclusão de leite e derivados por tempo prolongado, pode influenciar negativamente a saúde óssea de adolescentes com APLV.

## **2. OBJETIVOS**

## **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a saúde óssea de adolescentes com APLV IgE mediada persistente em tratamento dietético prolongado.

## **2.2 Objetivos específicos**

Descrever a saúde óssea de pacientes com APLV IgE mediada persistente e comparar com controles saudáveis através de:

- Densitometria óssea da coluna lombar, fêmur total e corpo inteiro
- Microarquitetura óssea e densidade volumétrica da região do rádio e tíbia
- Marcadores do metabolismo ósseo

### **3. MÉTODOS**

### **3.1 Desenho do estudo**

Estudo observacional, com corte transversal, com grupo saudável de comparação.

### **3.2 Local do estudo**

Este estudo foi realizado no ambulatório de Alergia Alimentar da Unidade de Alergia e Imunologia do Instituto da Criança e do Adolescente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICr-HCFMUSP), Laboratório do ICr-HCFMUSP, Laboratório Central de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) e no Laboratório de Metabolismo Ósseo da Disciplina de Reumatologia da FMUSP (Laboratório de Investigação Médica - LIM 17).

#### **3.2.1 Sistematização de atendimento nutricional**

O ambulatório de alergia alimentar recebe encaminhamentos via Central de Regulação de Oferta de Serviços de Saúde (CROSS) e é um centro de referência de tratamento de casos graves de alergia alimentar, realização de teste de provocação oral e imunoterapia oral. Dessa forma, a maioria dos pacientes apresenta APLV IgE mediada persistente. Outra característica dessa clientela é que raramente estes pacientes relatam ter realizado acompanhamento com nutricionista.

O atendimento é sistematizado e multidisciplinar. Na primeira consulta, o nutricionista é responsável pela orientação dos cuidados com a dieta isenta de leite e derivados, avaliação e orientação nutricional. Durante o acompanhamento, o nutricionista está disponível para reforçar as orientações, retirada de dúvidas dos pacientes e pelas orientações após o teste de provocação oral e na fase de manutenção da imunoterapia oral.

Além disso, o nutricionista é responsável por avaliar a necessidade de suplementação de cálcio, levando em consideração o consumo de fórmula ou bebida substituta do LV, volume consumido e a recomendação de cálcio para idade. O nutricionista informa a dose necessária para suplementação ao médico, o qual faz a prescrição para a dispensação pela farmácia do ICr-HCFMUSP. A suplementação é realizada na forma de carbonato de cálcio em comprimidos de 500mg ou 1250mg, correspondente a 200 e 500mg de cálcio elementar, respectivamente.

### 3.3 Amostra

Para os casos, foram incluídas adolescentes do sexo feminino, com APLV IgE mediada, submetidas a dieta de eliminação total por tempo prolongado (pelo menos 5 anos de isenção de leite e derivados).

#### **Critérios de Inclusão:**

1. Pacientes entre 10 e 18 anos
2. Sexo feminino
3. Estadiamento puberal a partir do estadio 3 (M3 e/ou P3 de Tanner)
4. Pacientes com diagnóstico de APLV IgE mediada, baseada nos seguintes critérios:

✓ História clínica compatível com manifestações IgE mediadas até 2 horas após exposição ao LV com pesquisa de IgE específica positiva para APLV e/ou frações, seja por testes cutâneos (TCHI) e/ou amostras de sangue (ImmunoCAP™)

✓ Teste de provocação oral aberto ou duplo cego placebo controlado para LV positivo

✓ Pacientes com anafilaxia de acordo com critérios de Sampson et al. (2006) ao LV associado à evidência de sensibilização ao LV (TCHI e/ou ImmunoCAP™)

✓ Manifestações clínicas compatíveis com APLV IgE mediada pelo consumo de LV nos últimos seis meses antes de entrar no estudo (por exposição acidental ou voluntária)

#### **Critérios de exclusão:**

1. Gravidez
2. Insuficiência renal ou hepática
3. Hipertireoidismo ou hipotireoidismo
4. Tabagismo
5. Causas secundárias de baixa massa óssea: história clínica de má-absorção de cálcio e vitamina D
6. Uso de corticoide oral
7. Malformação física

Para o grupo controle, foram selecionadas adolescentes saudáveis, sem restrições alimentares, emparelhadas segundo sexo e maturação sexual. O recrutamento envolveu preferencialmente os familiares das pacientes (irmãs ou primas), para minimizar diferenças em alguns fatores de risco para baixa massa óssea, como hábitos de vida, nutrição, fatores genéticos e constitucionais. Além disso, a seleção também envolveu parentes ou conhecidos de funcionários do ICr-HCFMUSP e da FMUSP, amigas das pacientes e voluntárias do comitê juvenil. Os controles deveriam referir consumir habitualmente leite e derivados, sem limitações culturais, filosóficas ou qualquer outro motivo técnico.

### 3.4 Aspectos éticos

Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Departamento de Pediatria e à Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do HCFMUSP e aprovado sob o número 1.481.563 (**Anexo A**). Os participantes e familiares que aceitaram participar do estudo foram informados sobre os objetivos do projeto de pesquisa e somente foram incluídos após assinatura do termo de consentimento pelo responsável e termo de assentimento específico pelo sujeito da pesquisa (**Anexo B**).

### 3.5 Coleta de dados

A seleção dos pacientes ocorreu no período de Janeiro de 2016 a Agosto de 2022. A coleta dos exames foi realizada de Maio de 2016 a Dezembro de 2022.

Foram coletados dados demográficos, antropométricos, alimentares e clínicos de pacientes e controles conforme formulário padronizado (**Anexo C**), por meio de entrevista e/ou revisão de prontuários.

Alguns dos aspectos clínicos foram posteriormente usados na análise do desfecho, com destaque para presença ou ausência de asma, uso ou não de corticoide (nasal, inalatório ou tópico) e tipo de dieta (exclusão total ou parcial).

O grupo denominado exclusão parcial consistiu em:

1. pacientes tolerantes a leite submetido a altas temperaturas no momento do estudo, após realização de teste de provocação oral com uma unidade de *muffin* contendo 8g de LV desnatado em pó, sem reações (Barbosa et al. 2017)

2. pacientes submetidos à protocolo de imunoterapia oral, com consumo da dose de manutenção de 1 copo de 150ml a 200ml de LV, diariamente, sem reações (Pajno et al. 2018).

Para aferição do peso, foi utilizada balança do tipo plataforma para adultos, digital, com capacidade para 150kg e precisão de 100 g. A adolescente foi posicionada de costas para o medidor da balança, descalça, com o mínimo possível de roupas, no centro do equipamento, ereta, com os pés juntos e os braços estendidos ao longo do corpo. Foi mantida parada nessa posição até que se completasse a aferição (SBP 2009).

Para medir a altura da adolescente foi utilizado estadiômetro de parede, graduado em centímetros e milímetros. A adolescente foi medida em pé, descalça, colocada no centro do equipamento, com a cabeça livre de adereços, ereta, com os braços estendidos ao longo do corpo, a cabeça erguida, olhando para um ponto fixo na altura dos olhos. Os calcanhares, os ombros e as nádegas deveriam estar em contato com o antropômetro. As porções internas dos ossos dos calcanhares deveriam se tocar, bem como a parte interna dos joelhos; os pés unidos deveriam formar um ângulo reto com as pernas (SBP 2009).

Para classificação do estado nutricional, foram utilizados os índices, em Z-score, de estatura para idade e índice de massa corporal (IMC) para idade, de acordo com o referencial e pontos de corte propostos pela Organização Mundial da Saúde (WHO 2007).

O estadiamento puberal foi mensurado por autoavaliação de acordo com os critérios propostos por Tanner (Marshall e Tanner 1969).

A ingestão de nutrientes foi analisada por meio de registro alimentar de 24 horas (média de 2 dias não consecutivos) devido ao baixo custo e aplicação rápida (Salvador Castell et al. 2015; Bailey et al. 2019). Os dados foram analisados por meio do *software* Dietbox<sup>®</sup> para cálculo de dieta ([www.dietbox.me](http://www.dietbox.me)), utilizando-se os dados da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) ou da Tabela de Composição de Alimentos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). As informações nutricionais dos produtos industrializados foram obtidas dos rótulos dos produtos e inseridas no *software*. Para a padronização dos dados de medidas caseiras e receitas foram utilizadas as recomendações de Fisberg et al. (2002) e

Pinheiro et. al. (2005). Foram avaliados o consumo de energia, carboidratos, proteínas, gorduras, cálcio, fósforo, magnésio e vitamina D e comparados com as recomendações do Institute of Medicine, denominadas Dietary Reference Intakes (Institute of Medicine 2005; Institute of Medicine 2011; National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, 2023).

O nível de atividade física foi avaliado por meio de pedômetro digital com relógio (Modelo: PE320) da Oregon Scientific<sup>®</sup>, um sensor de movimento que registra o valor referente ao número de passos do avaliado. Este método de avaliação tem como vantagens o custo, a facilidade de uso e da tabulação dos resultados, além da avaliação objetiva da maioria das atividades. O pedômetro foi utilizado por 7 dias e removido apenas para tomar banho, atividades aquáticas e para dormir (Rosa et al. 2011; Bailey et al. 2019).

A história de fraturas de ossos foi considerada após início da dieta isenta de leite e derivados e foram excluídos eventos de fraturas por traumas graves, por exemplo, acidente de carro.

### **3.5.1 Avaliação laboratorial**

Foram coletadas amostras de sangue, após jejum de 12 horas, pela manhã, antes das 10 horas.

Foram avaliados os níveis séricos de cálcio (total e ionizável), fósforo, fosfatase alcalina, proteína total e albumina no Laboratório do ICr-HCFMUSP e de cortisol no Laboratório Central de Análises Clínicas do HCFMUSP, utilizando métodos padronizados pelos mesmos. Os valores obtidos foram avaliados de acordo com os valores de referência adotados pelos Laboratórios.

Níveis séricos de PTH, 25-OHD, P1NP e CTX foram avaliados no Laboratório de Metabolismo Ósseo da Disciplina de Reumatologia da FMUSP (LIM 17), pelo método de Eletro-Imuno-Quimioluminescência (Roche Diagnostics, Suíça).

### 3.5.2 Densidade mineral óssea areal, densidade mineral óssea volumétrica e microarquitetura óssea

A aDMO foi medida por absorciometria de dupla emissão de raios-x (dual X-ray absorptiometry, DXA), usando equipamento Hologic (Hologic Inc. Bedford, MA, EUA, modelo Discovery<sup>®</sup>), nas seguintes regiões: coluna lombar, fêmur total e corpo inteiro sem a cabeça; utilizando-se um *software* pediátrico. O resultado foi classificado em Z-escore, considerando-se baixa aDMO para a idade cronológica quando menor ou igual a -2 DP. O mesmo exame e *software* foram utilizados para avaliar a composição corporal: massa magra, massa gorda e porcentagem de gordura.

O TBS foi analisado pela imagem obtida do DXA na região da coluna lombar por meio do *software* TBS iNsight<sup>®</sup> Versão 2.1 (Med-Imaps, Bordeaux, França). O resultado foi convertido em Z-escore conforme os valores de referência propostos por Kalkwarf et al. (2022) e de acordo com o estágio puberal de mamas.

Para avaliação da microarquitetura óssea e DMO volumétrica, foram avaliados o rádio distal e a tíbia distal. O antebraço não-dominante e a tíbia distal dos pacientes foram imobilizados em uma concha de fibra de carbono. A medição incluiu 110 medidas, correspondendo a uma seção de 9,02 milímetros ao longo da direção axial. A microarquitetura foi medida usando um sistema tridimensional de HR-pQCT (Xtreme CT; Scanco Medical AG). Este sistema permite a aquisição simultânea de uma pilha de medidas paralelas com uma resolução de 82  $\mu\text{M}$  (tamanho do voxel). As seguintes definições foram utilizadas: energia efetiva de 60 kVp, corrente de tubo de raio-x de 95 mAs e matriz de 1536 x 1536. A dose de radiação efetiva para um exame de HR-pQCT padrão com aproximadamente 96 mAs foi inferior a 3  $\mu\text{Sv}$ . Esta dose é inferior a uma radiografia simples de tórax, a qual expõe a uma dose de 20  $\mu\text{Sv}$  (Fuller et al., 2015).

O controle de qualidade foi monitorado através de exames diários de um fantasma (Phanton) que contém varetas de HA (hidroxiapatita) incorporado em um tecido de resina equivalente (QRM, Moehrendorf, Alemanha) (Cohen et al. 2010).

Foram também analisados os parâmetros de resistência óssea adquiridos pelo método do Elemento Finito (Finite element, FE) (Boutroy et al. 2008). A análise foi realizada com a utilização do *software* do FE, v1.13, SCANCO Medical AG, Suíça, Janeiro de 2009 (Manual do Fabricante).

O **Quadro 3** descreve os parâmetros obtidos pela HR-pQCT e suas abreviaturas conforme utilizado na literatura médica.

Os exames tiveram curta duração (aproximadamente 30 minutos), não necessitaram de sedação e apresentaram baixo risco de exposição à radiação como citado acima. Ambos os exames foram realizados no Laboratório de Metabolismo Ósseo da Disciplina de Reumatologia da FMUSP (LIM 17).

**Quadro 3 - Parâmetros ósseos obtidos pela HR-pQCT**

<b>Parâmetro (abreviatura)</b>	<b>Descrição</b>	<b>Unidade</b>
<b>Parâmetros de densidade mineral óssea volumétrica (vBMD)</b>		
Total (Tt.vBMD)	Densidade mineral óssea volumétrica total	mg HA/cm <sup>3</sup>
Trabecular (Tb.vBMD)	Densidade mineral óssea volumétrica trabecular	mg HA/cm <sup>3</sup>
Cortical (Ct.vBMD (ADV))	Densidade mineral óssea volumétrica cortical	mg HA/cm <sup>3</sup>
<b>Parâmetros estruturais</b>		
Número (Tb.N)	Número de trabéculas	1/mm
Espessura (Tb.Th)	Espessura trabecular	mm
Separação (Tb.Sp)	Separação trabecular	mm
Espessura (Ct.Th)	Espessura cortical	mm
<b>Parâmetros de resistência óssea</b>		
Stiffness (S)	Rigidez do tecido	kN/mm
Failure Load (F.Load)	Estimativa da carga máxima suportada	N
<b>Parâmetro de porosidade</b>		
Porosidade (Ct.Po)	Porosidade cortical	%

Fonte: Boutroy et al. 2008; Mikolajewicz et al. 2015

HA: hidroxiapatita; kN: kilonewton; N: newton

### 3.6 Análise dos dados

O tamanho da amostra foi calculado através do *software* GraphPad Statmate (versão 1,01). Foi estimado o recrutamento de 30 indivíduos em cada grupo (pacientes e controles saudáveis), baseando em médias e desvios-padrão de Z-

escore da aDMO de corpo inteiro sem a cabeça (Jensen et al. 2004; Yang et al. 2013). Este tamanho amostral confere ao estudo 80% de poder para encontrar diferenças iguais ou maiores que 0,57 no Z-escore da aDMO de corpo inteiro sem a cabeça.

Variáveis nominais foram descritas através de número e porcentagem e comparadas entre os grupos através do teste Qui-quadrado ou exato de Fisher. As variáveis numéricas com distribuição normal foram descritas e comparadas entre os grupos através das médias e desvios-padrão, pelo teste T para dados não emparelhados. Variáveis com distribuição assimétrica foram descritas e comparadas entre os grupos através das medianas e intervalo interquartil, pelo teste de Mann-Whitney.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do *software* Stata® versão 15.1 (College Station, TX: StataCorp LLC). Foi adotado um nível de significância de 5%.

### **3.7 Orçamento**

Os exames de sangue do Laboratório do ICr-HCFMUSP e de cortisol no Laboratório Central de Análises Clínicas do HCFMUSP foram coletados na rotina de exames.

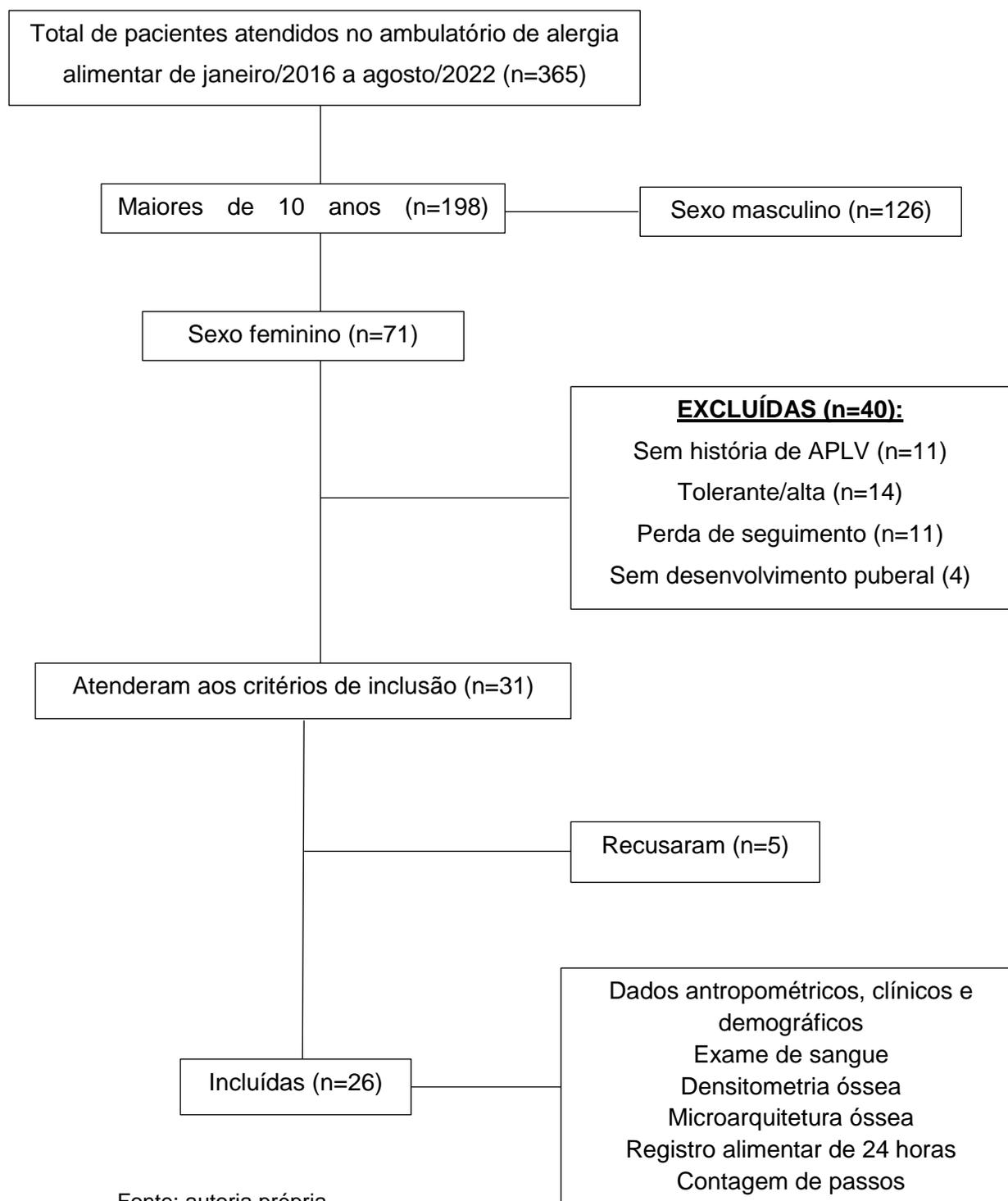
Os custos do pedômetro e dos exames de sangue do LIM17 foram financiados com recursos obtidos de projetos de pesquisa anteriores da Unidade de Alergia e Imunologia ICr-HCFMUSP destinados à pesquisa (CG 31548). O exame de DXA e HR-pQCT receberam apoio de financiamento pela FAPESP (Projeto 2016/0006-7) e de produtividade em pesquisa do CNPQ (3055556-2017-7).

## **4. RESULTADOS**

#### 4.1 Caracterização da amostra

Os casos foram recrutados durante as consultas de rotina do ambulatório de alergia alimentar. A **Figura 8** ilustra o fluxograma de seleção dos pacientes.

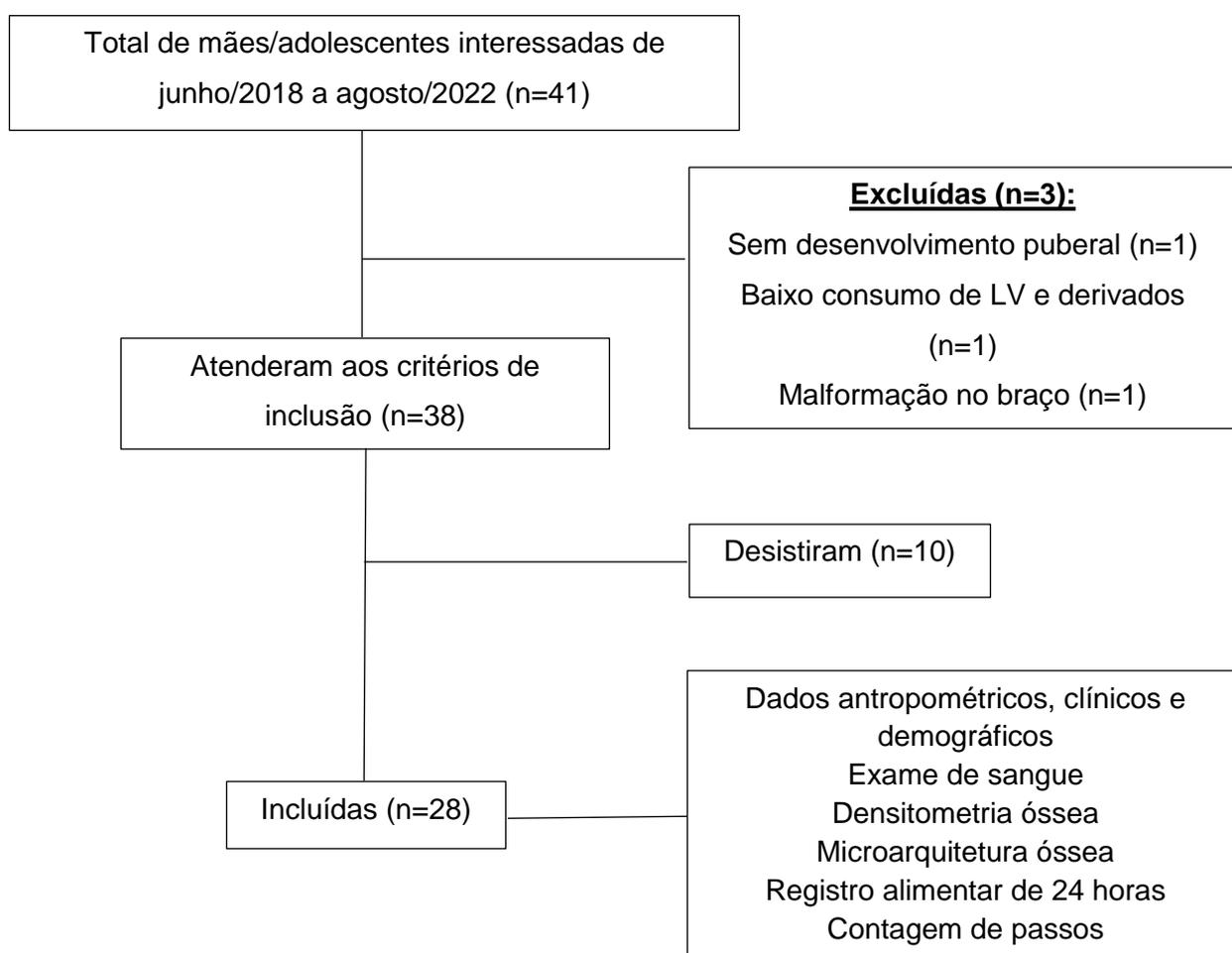
**Figura 8 - Fluxograma de seleção dos pacientes**



Fonte: autoria própria

A coleta de controles foi iniciada em Junho de 2018, após terem sido coletados 12 casos, possibilitando recrutar o grupo controle com características semelhantes (idade, peso, estatura e índice de massa corporal). Quarenta e uma adolescentes e/ou mães de adolescentes demonstraram interesse em participar da pesquisa, sendo 2 familiares dos casos (uma irmã e uma prima). A **Figura 9** ilustra o fluxograma de seleção dos controles.

**Figura 9 - Fluxograma de seleção dos controles**



Fonte: autoria própria

## 4.2 Descrição dos casos

Na primeira consulta a média de idade das adolescentes com APLV foi de  $6,5 \pm 3,1$  anos. A média de tempo de acompanhamento no ambulatório de alergia alimentar foi de  $6,0 \pm 3,6$  anos. A mediana de consultas médicas foi de 17 (8 – 22) e a mediana do número de consultas com a nutricionista foi de 6 (5 – 12). Quatro pacientes tiveram seguimento parcial durante este período (faltaram em retornos).

Todos os pacientes receberam aleitamento materno, com duração mediana de 12,3 meses, variando de 4,1 a 30,5 meses. Apenas 3 (11,5%) pacientes receberam fórmula infantil. Histórico de substituição do LV por bebida vegetal foi relatado por 23 (88,4%) pacientes e de suco por 3 (11,5%) pacientes.

O consumo atual de bebida vegetal foi referido por 16 (62%) pacientes e a suplementação atual de cálcio foi referida por 11 (42%) pacientes, sendo que o tempo mediano referido de suplementação foi de 2,66 (0,5 – 6,66) anos.

A mediana de tempo de dieta para APLV foi de 12,4 (11,0 – 13,7) anos, sendo que 14 (54%) pacientes realizavam dieta de exclusão parcial (devido ao consumo de leite submetido a altas temperaturas ou ao consumo da dose de manutenção do protocolo de imunoterapia oral) (**Tabela 1**).

**Tabela 1 - Tipo atual e tempo de dieta de exclusão de LV**

Tipo atual de dieta de exclusão de LV	n (%)	Tempo de dieta de exclusão total (anos)**
Total	12 (46)	11,7 (10,4 – 15,1)
Parcial*	14 (54)	10,2 (9,2 – 12,2)

\*consumo de leite submetido a altas temperaturas ou dose de manutenção da imunoterapia oral

\*\* Resultados expressos em mediana e intervalo interquartil

Ao comparar os pacientes com dieta de exclusão total e parcial, não houve diferença nas características demográficas, antropométricas e clínicas. Em relação à saúde óssea, verificou-se diferença no CMO de fêmur total, na aDMO de fêmur total, no TBS L1-L4, no Z-escore do TBS, na DMO volumétrica da tíbia e na espessura cortical da tíbia (**Tabela 2**).

**Tabela 2 - Diferença entre pacientes com dieta de exclusão total e parcial**

Variável	Dieta de exclusão total (n= 12)	Dieta de exclusão parcial* (n= 14)	P
CMO fêmur total, g	19,18 (17,73 – 24,56)	25,11 (20,89 – 28,36)	<b>0,018<sup>&amp;</sup></b>
aDMO fêmur total, g/cm <sup>2</sup>	0,748 ± 0,124	0,854 ± 0,117	<b>0,034<sup>‡</sup></b>
TBS L1-L4	1,263 (1,201-1,369)	1,392 (1,356-1,420)	<b>0,010<sup>&amp;</sup></b>
Z-escore TBS	0,03 ± 1,34	1,14 ± 0,90	<b>0,020<sup>‡</sup></b>
Tt.vBMD, mg HA/cm <sup>3</sup> (Tíbia)	259,0 ± 41,8	298,7 ± 40,1	<b>0,021<sup>‡</sup></b>
Ct.Th, mm (Tíbia)	0,77 ± 0,31	1,04 ± 0,20	<b>0,015<sup>‡</sup></b>

\*consumo de leite submetido a altas temperaturas ou dose de manutenção da imunoterapia oral

Resultados expressos em média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil.

<sup>‡</sup>Teste t & Mann-Whitney

Quanto ao uso de corticoide, foi relatado uso atual por 9 pacientes, sendo corticoide nasal (n=4) e/ou inalatório (n=7). Estes apresentaram menor Z-escore de coluna lombar (p=0,036), número de trabéculas da tíbia (p=0,017), separação trabecular da tíbia (p=0,012), número de trabéculas do rádio (p=0,020) e separação trabecular do rádio (p=0,025) em comparação com os pacientes que não utilizavam corticoide.

Ao considerar a presença ou ausência de asma (n= 13 vs n=13) entre os pacientes, não houve diferença na densitometria óssea. Houve tendência de diferença na DMO volumétrica total da tíbia (p=0,071), na DMO volumétrica cortical da tíbia (p=0,050), na espessura cortical da tíbia (p=0,076) e na porosidade cortical da tíbia (p=0,070) ao comparar os pacientes com asma e sem asma.

### 4.3 Avaliação dos casos vs controles

As características antropométricas, demográficas e clínicas dos casos e controles estão apresentadas na **Tabela 3**. Houve diferença quanto à presença de doença alérgica associada (asma, dermatite atópica, rinite alérgica e/ou esofagite eosinofílica) entre casos e controles.

**Tabela 3 - Características demográficas, antropométricas e clínicas dos casos e controles**

Variáveis	Casos (n = 26)	Controles (n = 28)	P
Idade, anos	13,0 (11,4 – 14,7)	13,6 (11,9 – 14,9)	0,396 <sup>&amp;</sup>
Caucasianos, n (%)	18 (69)	19 (68)	0,914 <sup>#</sup>
Moradores da casa, n	3,8 ± 0,9	4,0 ± 1,0	0,557 <sup>†</sup>
Renda per capita, R\$	1250,00 (775,00 – 1645,83)	925,00 (458,33 – 1558,33)	0,205 <sup>&amp;</sup>
<b>Dados antropométricos</b>			
Peso, kg	48,0 ± 9,2	50,3 ± 9,5	0,362 <sup>†</sup>
Estatura, cm	154,5 ± 5,6	157,7 ± 6,6	0,061 <sup>†</sup>
Estatura/idade, Z-escore	0,03 ± 1,02	0,22 ± 1,00	0,490 <sup>†</sup>
IMC, kg/m <sup>2</sup>	20,1 ± 3,6	20,2 ± 3,2	0,934 <sup>†</sup>
IMC/idade, Z-escore	0,24 ± 1,20	0,20 ± 1,06	0,882 <sup>†</sup>
<b>Estado nutricional</b>			
Magreza, n (%)	1 (3,8)	0 (0)	0,481 <sup>§</sup>
Eutrofia, n (%)	19 (73)	22 (79)	0,637 <sup>#</sup>
Excesso de peso, n (%)	6 (23)	6 (21)	0,884 <sup>#</sup>
Tanner mamas ≥ 3, n (%)	19 (73)	23 (82)	0,423 <sup>#</sup>
Tanner pelos pubianos ≥ 3, n (%)	24 (92)	25 (89)	1,000 <sup>#</sup>
Menarca presente, n (%)	16 (62)	20 (71)	0,441 <sup>#</sup>
Idade da menarca, anos	11,6 ± 1,1	11,7 ± 1,7	0,774 <sup>†</sup>
Tempo de menarca, anos	2,6 (1,1 – 4,8)	2,3 (1,3 – 3,5)	0,874 <sup>&amp;</sup>
Tempo de AMT, meses	12,3 (8,7 – 20,5)	11,2 (3,8 – 18,2)	0,191 <sup>&amp;</sup>
Atividade física, média de passos	6894 (5470 – 9742)	9328 (4896 – 13886)	0,599 <sup>&amp;</sup>
Exposição solar, horas/semana	1,4 (0,1 – 2,7)	1,3 (1,0 – 3,3)	0,453 <sup>&amp;</sup>
História pessoal fraturas, n (%)	3 (11,5)	1 (3,6)	0,342 <sup>§</sup>
História familiar fraturas, n (%)	2 (7,7)	6 (21,4)	0,253 <sup>§</sup>
História familiar osteoporose, n (%)	7 (27)	7 (25)	0,872 <sup>#</sup>
Doença alérgica associada, n (%)	21 (80,8)	12 (42,8)	<b>0,004<sup>#</sup></b>

Resultados expressos em média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil ou número e porcentagem.

IMC: Índice de massa corporal; AMT: Aleitamento materno total

<sup>†</sup>Teste t <sup>&</sup>Mann-Whitney <sup>#</sup>Qui-quadrado <sup>§</sup>Teste exato de Fisher

Em relação à ingestão de nutrientes, houve diferença entre os grupos quanto à ingestão de cálcio (sem considerar a suplementação) e fósforo (**Tabela 4**).

**Tabela 4 - Ingestão de nutrientes de casos e controles**

Nutrientes	Casos (n=26)	Controles (n=28)	P
Energia, kcal	1716 (1492 – 1954)	1765 (1652 – 2138)	0,115 <sup>&amp;</sup>
Adequação energia, %	88,1 ± 21,4	94,1 ± 25,9	0,336 <sup>‡</sup>
Proteínas, g	71,4 ± 20,8	77,5 ± 24,2	0,331 <sup>‡</sup>
% VET* proteína	16,2 ± 4,3	16,2 ± 3,9	0,993 <sup>‡</sup>
Carboidratos, g	222,4 ± 61,6	247,9 ± 71,3	0,166 <sup>‡</sup>
% VET carboidratos	51,2 (45,6 – 54,4)	51,9 (46,8 – 54,4)	0,835 <sup>&amp;</sup>
Gorduras, g	63,7 ± 17,2	68,9 ± 21,1	0,330 <sup>‡</sup>
% VET gorduras	33,3 ± 5,6	32,1 ± 5,2	0,422 <sup>‡</sup>
<b>Cálcio dietético**, mg</b>	<b>457,77 (318,01 – 571,23)</b>	<b>630,64 (439,43 – 746,03)</b>	<b>0,012<sup>&amp;</sup></b>
Cálcio total***, mg	633,00 (484,46 – 817,18)	630,64 (439,43 – 746,03)	0,822 <sup>&amp;</sup>
Adequação cálcio total, %	48,7 (37,3 – 62,9)	48,5 (33,8 – 57,4)	0,822 <sup>&amp;</sup>
<b>Fósforo, mg</b>	<b>726,56 ± 242,51</b>	<b>944,41 ± 338,60</b>	<b>0,009<sup>‡</sup></b>
<b>Adequação fósforo, %</b>	<b>58,1 ± 19,4</b>	<b>75,6 ± 27,1</b>	<b>0,009<sup>‡</sup></b>
Magnésio, mg	166,76 ± 63,70	191,37 ± 77,90	0,212 <sup>‡</sup>
Adequação magnésio, %	63,2 ± 27,6	68,2 ± 32,8	0,542 <sup>‡</sup>
Vitamina D, mcg	1,92 (0,91 – 3,06)	2,29 (1,26 – 3,25)	0,411 <sup>&amp;</sup>
Adequação vitamina D, %	12,8 (6,1 – 20,4)	15,2 (8,4 – 21,6)	0,411 <sup>&amp;</sup>

Resultados expressos em média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil.

\*VET: valor energético total

\*\* Cálcio dietético: média da ingestão de cálcio obtida pelo registro de 24 horas

\*\*\* Cálcio total: cálcio dietético somado ao cálcio ingerido por suplementação medicamentosa

<sup>‡</sup>Teste t & Mann-Whitney

Quanto aos exames laboratoriais, todos os casos e controles apresentaram níveis adequados de proteína total e albumina. Não houve diferença entre os grupos quanto ao número de pacientes com alteração nos níveis de cálcio no soro, cálcio

ionizado, fósforo e fosfatase alcalina. Houve diferença em relação ao número de participantes com os níveis de cortisol diminuídos (9 casos vs 2 controles;  $p=0,016$ ). Apesar de não ser constatada diferença entre os grupos, destaca-se que cerca de 30% dos casos e controles apresentaram elevação nos níveis de fósforo sem significado clínico. Não houve diferença entre os grupos nos níveis de CTX, P1NP, PTH e vitamina D, mas observou-se que 13 (50%) casos e 13 (46,4%) controles apresentaram níveis de vitamina D abaixo de 20 ng/mL.

Os parâmetros de CMO, aDMO e Z-escore de coluna lombar, fêmur (colo e total) e corpo inteiro, avaliados pelo DXA estão descritos na **Tabela 5**. Houve diferença entre os grupos em relação ao CMO e aDMO de coluna lombar e de corpo inteiro. Não foi observada diferença entre os grupos em relação ao TBS.

Não houve diferença significativa entre os grupos em relação à massa magra, massa gorda e porcentagem de gordura corporal avaliada pelo DXA.

Os parâmetros de microarquitetura óssea e DMO volumétrica da região da tíbia e rádio estão apresentados na **Tabela 6**. Houve diferença entre os grupos quanto aos parâmetros de resistência óssea (rigidez do tecido e estimativa da carga suportada) da região da tíbia.

**Tabela 5 - Conteúdo mineral ósseo (CMO), densidade mineral óssea areal (aDMO) e escore do osso trabecular (TBS) obtidos pela densitometria óssea (DXA) dos casos e controles**

Densitometria óssea (DXA)	Casos (n = 26)	Controles (n = 28)	P
<b>Coluna lombar (L1-L4)</b>			
CMO (g)	38,83 ± 9,12	44,50 ± 10,48	0,039 <sup>‡</sup>
aDMO (g/cm <sup>2</sup> )	0,796 ± 0,129	0,872 ± 0,121	0,028 <sup>‡</sup>
Z-escore aDMO	-0,31 ± 1,18	0,09 ± 0,91	0,163 <sup>‡</sup>
TBS L1-L4	1,330 ± 0,109	1,366 ± 0,109	0,225 <sup>‡</sup>
Z-escore TBS	0,89 (-0,10 – 1,22)	0,94 (0,39-1,42)	0,587 <sup>&amp;</sup>
<b>Colo fêmur</b>			
CMO (g)	3,15 ± 0,49	3,45 ± 0,51	0,035 <sup>‡</sup>
aDMO (g/cm <sup>2</sup> )	0,741 ± 0,114	0,773 ± 0,095	0,274 <sup>‡</sup>
Z-escore aDMO	-0,45 ± 1,22	-0,36 ± 0,97	0,784 <sup>‡</sup>
<b>Fêmur total</b>			
CMO (g)	22,18 ± 4,36	24,40 ± 3,67	0,049 <sup>‡</sup>
aDMO (g/cm <sup>2</sup> )	0,803 ± 0,129	0,850 ± 0,111	0,153 <sup>‡</sup>
Z-escore aDMO	-0,46 ± 1,20	-0,26 ± 1,07	0,536 <sup>‡</sup>
<b>Corpo inteiro</b>			
CMO (kg)	1,11 ± 0,21	1,27 ± 0,24	0,013 <sup>‡</sup>
aDMO (g/cm <sup>2</sup> )	0,823 (0,757 – 0,866)	0,877 (0,807 – 0,916)	0,020 <sup>&amp;</sup>
Z-escore aDMO	-0,66 ± 1,00	-0,26 ± 0,84	0,117 <sup>‡</sup>
<b>Baixa aDMO</b>			
Z-escore aDMO ≤ - 2, n (%)	3* (11,5)	0 (0)	0,105 <sup>§</sup>

Resultados expressos em média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil ou número e porcentagem.

\* caso 3: coluna e corpo inteiro; caso 8: corpo inteiro; caso 25: coluna e corpo inteiro

<sup>‡</sup>Teste t    & Mann-Whitney    § Teste exato de Fisher

**Tabela 6 - Parâmetros de microarquitetura óssea região da tíbia e rádio dos casos e controles**

Microarquitetura óssea (HR-pQCT)	Casos (n= 26)	Controles (n= 28)	P
<b>TÍBIA</b>			
<b>Densidade volumétrica</b>			
Tt.vBMD, mg HA/cm <sup>3</sup>	280,4 ± 44,9	306,2 ± 52,4	0,058 <sup>‡</sup>
Tb.vBMD, mg HA/cm <sup>3</sup>	171,2 ± 30,9	185,3 ± 29,9	0,094 <sup>‡</sup>
Ct.vBMD (ADV), mg HA/cm <sup>3</sup>	848,8 (743,2 – 937,9)	888,1 (823,7 – 961,6)	0,165 <sup>&amp;</sup>
<b>Parâmetros estruturais</b>			
Tb.N, 1/mm	1,75 ± 0,26	1,86 ± 0,30	0,138 <sup>‡</sup>
Tb.Th, mm	0,082 ± 0,012	0,084 ± 0,014	0,647 <sup>‡</sup>
Tb.Sp, mm	0,504 ± 0,095	0,465 ± 0,077	0,107 <sup>‡</sup>
Ct.Th, mm	0,96 (0,72 – 1,12)	1,12 (0,89 – 1,21)	0,080 <sup>&amp;</sup>
<b>Resistência óssea</b>			
<b>S (kN)</b>	<b>169 ± 24</b>	<b>194 ± 37</b>	<b>0,005<sup>‡</sup></b>
<b>F Load (N)</b>	<b>8030 ± 1118</b>	<b>9223 ± 1700</b>	<b>0,004<sup>‡</sup></b>
<b>Porosidade cortical</b>			
Ct.Po, %	3,73 (1,91 – 6,18)	2,78 (1,97 – 4,58)	0,216 <sup>&amp;</sup>
<b>RÁDIO</b>			
<b>Densidade volumétrica</b>			
Tt.vBMD, mg HA/cm <sup>3</sup>	270,91 ± 56,91	288,0 ± 61,4	0,295 <sup>‡</sup>
Tb.vBMD, mg HA/cm <sup>3</sup>	178,0 ± 34,7	178,8 ± 34,8	0,935 <sup>‡</sup>
Ct.vBMD (ADV), mg HA/cm <sup>3</sup>	744,9 (652,9 – 851,2)	817,1 (721,9 – 886,6)	0,130 <sup>&amp;</sup>
<b>Parâmetros estruturais</b>			
Tb.N, 1/mm	2,15 (2,03 – 2,36)	2,21 (1,99 – 2,37)	0,986 <sup>&amp;</sup>
Tb.Th, mm	0,069 ± 0,009	0,070 ± 0,010	0,701 <sup>‡</sup>
Tb.Sp, mm	0,402 (0,357 – 0,435)	0,378 (0,357 – 0,440)	0,869 <sup>&amp;</sup>
Ct.Th, mm	0,32 (0,15 – 0,65)	0,55 (0,24 – 0,72)	0,166 <sup>&amp;</sup>
<b>Resistência óssea</b>			
S (kN)	56 ± 12	63 ± 16	0,097 <sup>‡</sup>
F Load (N)	2732 ± 520	3045 ± 756	0,090 <sup>‡</sup>
<b>Porosidade cortical</b>			
Ct.Po, %	3,42 (1,08 – 4,55)	2,44 (1,53 – 4,25)	0,465 <sup>&amp;</sup>

Resultados expressos em média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil.

Tt.vBMD: Densidade mineral óssea volumétrica total, Tb.vBMD: Densidade mineral óssea volumétrica trabecular, Ct.vBMD (ADV): Densidade mineral óssea volumétrica cortical (advanced), Tb.N: Número de trabéculas, Tb.Th: Espessura trabecular, Tb.Sp: Separação trabecular, Ct.Th: Espessura cortical, S: rigidez do tecido, F Load: estimativa da carga suportada, Ct.Po: Porosidade cortical. <sup>‡</sup>Teste t <sup>&</sup>Mann-Whitney

#### 4.3.1 Avaliação dos casos vs controles de acordo com a presença de menarca

Considerando a influência da maturação sexual na saúde óssea e para homogeneizar a amostra de maneira mais objetiva, foi realizada uma análise considerando o emparelhamento dos casos e controles pela presença de menarca. Esta análise objetivou minimizar o viés de auto avaliação do estadiamento puberal. Não houve diferença entre os grupos quanto às características antropométricas, demográficas e clínicas dos casos e controles (**Tabela 7**).

Em relação aos exames laboratoriais, todos os casos e controles apresentaram níveis adequados de proteína total e albumina. Não houve diferença entre os grupos quanto ao número de pacientes com alteração nos níveis de cálcio no soro, cálcio ionizado, fósforo, fosfatase alcalina e cortisol e nem diferença quanto aos níveis de CTX, P1NP, PTH e vitamina D.

Quanto à ingestão de nutrientes, houve diferença entre os grupos quanto à ingestão de cálcio (sem considerar a suplementação) e fósforo (**Tabela 8**).

**Tabela 7 - Características demográficas, antropométricas e clínicas dos casos e controles considerando a presença de menarca**

Variáveis	Casos (n = 16)	Controles (n = 20)	P
Idade, anos	14,5 ± 2,3	14,6 ± 1,9	0,865 <sup>‡</sup>
Caucasianos, n (%)	11 (68,8)	13 (65)	0,813 <sup>#</sup>
Moradores da casa, n	3,7 ± 0,9	4,0 ± 1,0	0,428 <sup>‡</sup>
Renda per capita, R\$	1375,00 (818,75 – 1916,67)	733,33 (429,17 – 1156,25)	0,052 <sup>&amp;</sup>
<b>Dados antropométricos</b>			
Peso, kg	48,2 (45,4 – 54,7)	52,6 (46,4 – 56,8)	0,381 <sup>&amp;</sup>
Estatura, cm	156,5 ± 5,1	159,3 ± 6,6	0,163 <sup>‡</sup>
Estatura/idade, Z-escore	-0,24 ± 1,02	0,01 ± 0,94	0,451 <sup>‡</sup>
IMC, kg/m <sup>2</sup>	20,6 ± 2,7	20,9 ± 3,0	0,807 <sup>‡</sup>
IMC/idade, Z-escore	0,27 ± 0,88	0,23 ± 1,05	0,919 <sup>‡</sup>
<b>Estado nutricional</b>			
Eutrofia, n (%)	13 (81,3)	16 (80)	1,000 <sup>§</sup>
Excesso de peso, n (%)	3 (18,8)	4 (20)	1,000 <sup>§</sup>
Tanner mamas ≥ 3, n (%)	15 (93,8)	18 (90)	1,000 <sup>§</sup>
Tanner pelos pubianos ≥ 3, n (%)	15 (93,8)	19 (95)	1,000 <sup>§</sup>
Idade da menarca, anos	11,6 ± 1,1	11,7 ± 1,7	0,774 <sup>‡</sup>
Tempo de menarca, anos	2,6 (1,1 – 4,8)	2,3 (1,3 – 3,5)	0,874 <sup>&amp;</sup>
Tempo de AMT, meses	12,3 (9,4 – 19,8)	11,2 (3,1 – 16,0)	0,214 <sup>&amp;</sup>
Atividade física, média de passos	8016 ± 4436	9196 ± 5728	0,533 <sup>‡</sup>
Exposição solar, horas/semana	1,1 (0,0 – 2,1)	1,6 (0,0 – 3,6)	0,271 <sup>&amp;</sup>
História pessoal fraturas, n (%)	1 (6,3)	0 (0,0)	0,444 <sup>§</sup>
História familiar fraturas, n (%)	1 (6,3)	6 (30)	0,104 <sup>§</sup>
História familiar osteoporose, n (%)	6 (37,5)	5 (25)	0,418 <sup>#</sup>
Doença alérgica associada, n (%)	12 (75)	9 (45)	0,096 <sup>§</sup>

Resultados expressos em média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil ou número e porcentagem. IMC: Índice de massa corporal; AMT: Aleitamento materno total

<sup>‡</sup>Teste t    <sup>&</sup>Mann-Whitney    <sup>#</sup>Qui-quadrado    <sup>§</sup>Teste exato de Fisher

**Tabela 8 - Ingestão de nutrientes de casos e controles considerando a presença de menarca**

Nutrientes	Casos (n=16)	Controles (n=20)	P
Energia, kcal	1700 (1335 – 1872)	1754 (1597 – 2001)	0,181 <sup>&amp;</sup>
Adequação energia, %	79,9 ± 18,0	88,0 ± 23,6	0,291 <sup>‡</sup>
Proteínas, g	64,4 ± 18,2	74,3 ± 24,5	0,187 <sup>‡</sup>
% VET* proteína	15,5 ± 4,9	16,3 ± 4,3	0,617 <sup>‡</sup>
Carboidratos, g	196,9 (158,4 – 229,5)	225,5 (204,1 – 246,7)	0,152 <sup>&amp;</sup>
% VET carboidratos	50,0 ± 8,8	50,4 ± 6,5	0,874 <sup>‡</sup>
Gorduras, g	61,0 ± 16,5	67,6 ± 21,0	0,317 <sup>‡</sup>
% VET gorduras	34,3 ± 6,3	33,0 ± 5,4	0,514 <sup>‡</sup>
<b>Cálcio dietético**, mg</b>	<b>450,58 ± 280,46</b>	<b>664,21 ± 315,41</b>	<b>0,041<sup>‡</sup></b>
Cálcio total***, mg	675,75 (574,14 – 869,88)	668,73 (430,77 – 746,03)	0,611 <sup>&amp;</sup>
Adequação cálcio, %	52,0 (44,2 – 66,9)	51,4 (33,1 – 57,4)	0,611 <sup>&amp;</sup>
<b>Fósforo, mg</b>	<b>653,94 ± 225,71</b>	<b>922,14 ± 356,65</b>	<b>0,013<sup>‡</sup></b>
<b>Adequação fósforo, %</b>	<b>52,3 ± 18,1</b>	<b>73,8 ± 28,5</b>	<b>0,013<sup>‡</sup></b>
Magnésio, mg	148,50 ± 63,72	185,52 ± 85,72	0,160 <sup>‡</sup>
Adequação magnésio, %	54,8 (30,3 – 68,9)	48,2 (34,0 – 81,2)	0,524 <sup>&amp;</sup>
Vitamina D, mcg	2,09 (1,08 – 2,98)	2,50 (1,23 – 3,43)	0,331 <sup>&amp;</sup>
Adequação vitamina D, %	13,9 (7,2 – 19,9)	16,7 (8,2 – 22,8)	0,331 <sup>&amp;</sup>

Resultados expressos em média e desvio-padrão ou em mediana e intervalo interquartil.

\*VET: valor energético total

\*\* Cálcio dietético: média da ingestão de cálcio obtida pelo registro de 24 horas

\*\*\* Cálcio total: cálcio dietético somado ao cálcio ingerido por suplementação medicamentosa

<sup>‡</sup>Teste t <sup>&</sup> Mann-Whitney

Os parâmetros de CMO, aDMO e Z-escore de coluna lombar, fêmur (colo e total) e corpo inteiro, avaliados pelo DXA estão descritos na **Tabela 9**. Houve diferença entre os grupos em relação ao CMO e aDMO de coluna lombar e de corpo inteiro. Não foi observada diferença entre os grupos em relação ao TBS.

**Tabela 9 - Conteúdo mineral ósseo (CMO), densidade mineral óssea areal (aDMO) e escore do osso trabecular (TBS) obtidos pela densitometria óssea (DXA) dos casos e controles considerando a presença de menarca**

Densitometria óssea (DXA)	Casos (n = 16)	Controles (n = 20)	P
<b>Coluna lombar (L1-L4)</b>			
CMO (g)	43,92 ± 6,37	49,53 ± 7,15	<b>0,019<sup>‡</sup></b>
aDMO (g/cm <sup>2</sup> )	0,858 ± 0,089	0,927 ± 0,083	<b>0,022<sup>‡</sup></b>
Z-escore aDMO	-0,33 ± 1,02	0,12 ± 0,95	0,186 <sup>‡</sup>
TBS L1-L4	1,374 ± 0,090	1,416 ± 0,069	0,124 <sup>‡</sup>
Z-escore TBS	0,80 ± 1,18	1,06 ± 0,58	0,402 <sup>‡</sup>
<b>Colo fêmur</b>			
<b>CMO (g)</b>	<b>3,29 ± 0,48</b>	<b>3,65 ± 0,39</b>	<b>0,017<sup>‡</sup></b>
aDMO (g/cm <sup>2</sup> )	0,778 ± 0,115	0,800 ± 0,086	0,516 <sup>‡</sup>
Z-escore aDMO	-0,40 ± 1,25	-0,34 ± 0,98	0,862 <sup>‡</sup>
<b>Fêmur total</b>			
CMO (g)	23,97 ± 3,92	25,66 ± 2,88	0,145 <sup>‡</sup>
aDMO (g/cm <sup>2</sup> )	0,853 ± 0,121	0,884 ± 0,095	0,397 <sup>‡</sup>
Z-escore aDMO	-0,36 ± 1,20	-0,24 ± 1,06	0,747 <sup>‡</sup>
<b>Corpo inteiro</b>			
<b>CMO (kg)</b>	<b>1,20 ± 0,20</b>	<b>1,38 ± 0,18</b>	<b>0,008<sup>‡</sup></b>
<b>aDMO (g/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>0,851 ± 0,065</b>	<b>0,893 ± 0,042</b>	<b>0,024<sup>‡</sup></b>
Z-escore aDMO	-0,61 ± 0,88	-0,20 ± 0,74	0,140 <sup>‡</sup>
<b>Baixa aDMO</b>			
Z-escore aDMO ≤ - 2, n (%)	1 (6,3) <sup>*</sup>	0 (0)	0,444 <sup>§</sup>

Resultados expressos em média e desvio-padrão

<sup>‡</sup>Teste t    <sup>§</sup> Teste exato de Fisher

<sup>\*</sup>caso 8: corpo inteiro

Não houve diferença significativa entre os grupos em relação à massa magra, massa gorda e porcentagem de gordura corporal avaliada pelo DXA.

Os parâmetros de microarquitetura óssea e densidade volumétrica da região da tíbia e rádio estão apresentados na **Tabela 10**. Houve diferença entre os grupos em relação à densidade volumétrica total e trabecular da tíbia, espessura cortical da tíbia e quanto aos parâmetros de resistência óssea (rigidez do tecido e estimativa da carga suportada) da região da tíbia e do rádio.

**Tabela 10 - Parâmetros de microarquitetura óssea região da tíbia e rádio dos casos e controles considerando a presença de menarca**

Microarquitetura óssea (HR-pQCT)	Casos (n= 16)	Controles (n= 20)	P
<b>TÍBIA</b>			
<b>Densidade volumétrica</b>			
Tt.vBMD, mg HA/cm <sup>3</sup>	293,9 ± 36,1	325,9 ± 40,0	0,018 <sup>‡</sup>
Tb.vBMD, mg HA/cm <sup>3</sup>	170,8 ± 29,0	192,2 ± 27,0	0,029 <sup>‡</sup>
Ct.vBMD (ADV), mg HA/cm <sup>3</sup>	902,6 ± 82,0	922,9 ± 61,3	0,409 <sup>‡</sup>
<b>Parâmetros estruturais</b>			
Tb.N, 1/mm	1,76 ± 0,28	1,90 ± 0,32	0,190 <sup>‡</sup>
Tb.Th, mm	0,081 ± 0,011	0,086 ± 0,015	0,316 <sup>‡</sup>
Tb.Sp, mm	0,500 ± 0,096	0,454 ± 0,079	0,124 <sup>‡</sup>
Ct.Th, mm	1,02 ± 0,20	1,16 ± 0,15	0,027 <sup>‡</sup>
<b>Resistência óssea</b>			
S (kN)	174 ± 20	210 ± 26	<0,001 <sup>‡</sup>
F Load (N)	8301 ± 955	9950 ± 1147	<0,001 <sup>‡</sup>
<b>Porosidade cortical</b>			
Ct.Po, %	2,64 (1,58 – 3,42)	2,44 (1,81 – 2,88)	0,803 <sup>&amp;</sup>
<b>RÁDIO</b>			
<b>Densidade volumétrica</b>			
Tt.vBMD, mg HA/cm <sup>3</sup>	285,3 ± 61,3	313,1 ± 48,9	0,139 <sup>‡</sup>
Tb.vBMD, mg HA/cm <sup>3</sup>	166,5 ± 27,7	180,5 ± 32,5	0,180 <sup>‡</sup>
Ct.vBMD (ADV), mg HA/cm <sup>3</sup>	828,5 ± 106,5	862,4 ± 74,0	0,274 <sup>‡</sup>
<b>Parâmetros estruturais</b>			
Tb.N, 1/mm	2,12 (1,86 - 2,22)	2,21 (1,93 – 2,28)	0,390 <sup>&amp;</sup>
Tb.Th, mm	0,068 ± 0,010	0,071 ± 0,009	0,279 <sup>‡</sup>
Tb.Sp, mm	0,410 (0,389 – 0,467)	0,378 (0,361 – 0,453)	0,286 <sup>&amp;</sup>
Ct.Th, mm	0,56 ± 0,27	0,67 ± 0,18	0,151 <sup>‡</sup>
<b>Resistência óssea</b>			
S (kN)	61 ± 12	71 ± 10	0,010 <sup>‡</sup>
F Load (N)	2920 ± 508	3398 ± 461	0,006 <sup>‡</sup>
<b>Porosidade cortical</b>			
Ct.Po, %	1,76 (1,05 – 3,45)	2,16 (1,19 – 2,48)	0,973 <sup>&amp;</sup>

Resultados expressos em média e desvio-padrão ou em mediana e intervalo interquartil.

Tt.vBMD: Densidade mineral óssea volumétrica total, Tb.vBMD: Densidade mineral óssea volumétrica trabecular, Ct.vBMD (ADV): Densidade mineral óssea volumétrica cortical (advanced), Tb.N: Número de trabéculas, Tb.Th: Espessura trabecular, Tb.Sp: Separação trabecular, Ct.Th: Espessura cortical, S: rigidez do tecido, F Load: estimativa da carga suportada, Ct.Po: Porosidade cortical

<sup>‡</sup>Teste t & Mann-Whitney

## **5. DISCUSSÃO**

Este estudo confirmou a hipótese de que o tratamento dietético da APLV IgE mediada com exclusão de LV e derivados por tempo prolongado influenciou negativamente a saúde óssea de adolescentes com APLV. Foi demonstrado pela primeira vez que houve comprometimento da microarquitetura óssea trabecular e da resistência óssea de pacientes com APLV persistente, avaliada pela HR-pQCT. Os resultados ressaltam a importância da atenção de pediatras, alergistas, nutrólogos e nutricionistas para a saúde óssea de pacientes com APLV.

Destaca-se que a casuística é inédita, composta por adolescentes com APLV IgE mediada persistente, em dieta de exclusão de LV por período prolongado (aproximadamente uma década). O acompanhamento neste serviço foi iniciado cerca de 6 anos após o diagnóstico, o que já pode ter influenciado no comprometimento da saúde óssea.

Quanto ao histórico de tratamento dietético para APLV, a duração mediana do aleitamento materno de 12,3 meses foi inferior à recomendação de aleitamento até dois anos ou mais e a dados atuais brasileiros de prevalência de aleitamento. O Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil (ENANI-2019) revelou que a duração mediana do aleitamento materno no Brasil foi de 15,9 meses (UFRJ, 2021).

Em São Paulo, desde 2007, existe um protocolo clínico para dispensação de fórmulas infantis especiais para pacientes com APLV (Brasil, 2007). Devido à idade dos pacientes, provavelmente a falta de acesso a um programa de dispensação de fórmulas especiais acarretou em uso de bebida vegetal em substituição ao aleitamento materno antes dos dois anos de idade.

Quanto à relação do tipo de aleitamento e saúde óssea, de acordo com a revisão sistemática do *National Osteoporosis Foundation*, não existem evidências consistentes sobre a duração do aleitamento materno ou a influência do uso de fórmulas infantis sobre os desfechos ósseos e ocorrências de fraturas (Grau D de evidência). Quanto à composição das fórmulas, aquelas enriquecidas com oleína de palma ou *sn-2* palmitato podem ter efeito benéfico nos primeiros 6 meses de vida, entretanto estudos observacionais não constataram benefícios em longo prazo (Grau D de evidência) (Weaver et al. 2016). De qualquer maneira, é fundamental o apoio e incentivo ao aleitamento materno, pois esta é a primeira opção de tratamento na APLV (FOX et al., 2019).

O uso de bebidas vegetais a partir dos dois anos de idade é uma opção de substituição do LV, entretanto, não é obrigatório. É importante considerar que a composição destas bebidas vegetais mudou ao longo dos anos, sendo que existiam diversas marcas sem fortificação. Em muitos casos, percebeu-se a falta de uma avaliação dietética adequada, já que a suplementação de cálcio foi iniciada apenas após o acompanhamento neste serviço.

Durante o seguimento, cerca de metade dos pacientes passou a realizar dieta de exclusão parcial, pela inclusão de preparações assadas contendo leite (dieta *baked*) ou pelo tratamento de imunoterapia oral (dessensibilização). Este fato pode ter interferido nos resultados, porém devido às novas propostas de tratamento, torna-se cada vez menos frequente encontrar pacientes em dieta de exclusão total na adolescência.

Ao comparar as adolescentes com APLV IgE mediada do grupo dieta de exclusão total vs parcial, verificou-se melhor saúde óssea no segundo grupo. Esse resultado levanta a hipótese de que a introdução de LV e/ou derivados ao longo do acompanhamento poderia ser benéfica para a saúde óssea. Resultado semelhante foi obtido por Nachshon et al. (2014), em que os adultos jovens submetidos à imunoterapia oral apresentaram melhor perfil ósseo em relação aos adultos jovens em dieta de exclusão total. Entretanto, devem-se considerar as limitações metodológicas de ambos os estudos, já que não foi realizada uma avaliação evolutiva do mesmo paciente, não sendo possível concluir que a dieta teve impacto sobre a saúde óssea.

Ressalta-se que, em nosso estudo, o grupo de adolescentes com APLV em dieta de exclusão total apresentou menor valor de TBS do que o grupo de adolescentes com APLV em dieta de exclusão parcial, indicado pior qualidade do osso trabecular para o primeiro grupo. Sabe-se que a coluna lombar, sítio no qual o TBS é realizado, tem maior proporção de osso trabecular e este tipo de tecido ósseo parece responder mais rapidamente a intervenções (Pedro et al. 2021).

Não existem estudos na literatura que avaliaram o TBS em pacientes com APLV. Outros estudos em pediatria demonstraram comprometimento do TBS em pacientes com doenças associadas a risco nutricional, como anorexia nervosa (Donaldson et al. 2015; Levy-Shraga et al. 2019) e doença inflamatória intestinal (Levy-Shraga et al. 2021).

O tratamento de manifestações alérgicas como asma, rinite, dermatite atópica ou esofagite eosinofílica pode necessitar de prescrição de corticosteroide inalatório, nasal, tópico, oral ou deglutido. Um dos possíveis efeitos adversos do uso de corticosteroide consiste no aumento do risco de osteoporose e de fraturas (Rice et al. 2017). No nosso estudo, verificou-se que as adolescentes com APLV em uso de corticosteroides apresentaram piores parâmetros ósseos do que as adolescentes com APLV que não utilizavam. Entretanto, não foi possível avaliar o impacto do histórico e dose de corticoide utilizado sobre a saúde óssea.

No presente estudo foi possível verificar que os pacientes com asma apresentaram tendência de comprometimento na microarquitetura óssea da tíbia quando comparados com pacientes sem asma. Estudo de Goldberg et al. (2018) demonstrou que a presença de asma foi um fator de risco independente para a diminuição da aDMO em pacientes com APLV IgE mediada. Mais estudos são necessários para avaliar o impacto das comorbidades alérgicas e do uso crônico de corticosteroides sobre a saúde óssea de pacientes com APLV.

Os controles foram recrutados de maneira criteriosa com o objetivo de minimizar diferenças entre os grupos quanto às características antropométricas, demográficas e clínicas. Entretanto houve diferença quanto à presença de doença alérgica associada e à alteração nos níveis de cortisol. Esta diferença entre os grupos provavelmente reflete o maior número de comorbidades alérgicas associadas no grupo de adolescentes com APLV e maior uso de corticosteroide. Sabe-se que a presença de glicocorticoide exógena circulante provoca redução proporcional da produção endógena de cortisol (Allen, 2020).

A análise do subgrupo de adolescentes que apresentaram menarca permitiu obter um grupo mais homogêneo em relação à maturação sexual, além de não constatar diferença entre os grupos quanto à presença de doença alérgica associada e à alteração no nível de cortisol sérico. Nesta subanálise, provavelmente, o uso de corticosteroide devido a outras doenças alérgicas não foi o fator que influenciou na diferença da saúde óssea entre os grupos. Entretanto, esta afirmação não é conclusiva devido ao tamanho da amostra.

Quanto aos marcadores de metabolismo ósseo, apesar de não haver diferença entre os grupos, verificou-se alteração nos níveis de fósforo tanto em casos como em controles, mas sem repercussões clínicas. Possivelmente, um dos

fatores relacionados ao aumento dos níveis de fósforo corresponde ao consumo de produtos industrializados ultraprocessados com aditivos à base de fósforo (Takeda et al. 2014).

Além disso, aproximadamente metade dos pacientes e controles avaliados apresentaram níveis de vitamina D abaixo de 20ng/mL. Os estudos de Nachshon et al. (2014) e Mailhot et al. (2016) também encontraram resultados semelhantes, ou seja, ausência de diferença nos níveis de vitamina D entre casos e controles, sendo que aproximadamente metade dos casos apresentou baixos níveis de vitamina D.

Um estudo brasileiro duplo-cego randomizado controlado demonstrou efeitos positivos na microarquitetura óssea após suplementação de vitamina D em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil. Ao início do estudo, 95% apresentaram insuficiência de vitamina D (<30 ng/ml). O grupo que recebeu suplementação (50.000 UI/semana) por 6 meses teve melhora da microarquitetura trabecular, constatada pelo aumento do número de trabéculas (Lima et al. 2018).

Devido à importante participação da vitamina D no metabolismo ósseo, é recomendável que haja monitoramento dos níveis séricos e suplementação, sempre que necessário (Sociedade Brasileira de Pediatria, 2018, Weaver et al. 2016) .

No presente estudo, os marcadores laboratoriais do metabolismo ósseo não foram suficientes para detectar diferenças entre os grupos. Aspectos relacionados à mudança de método e valores de referência dos exames laboratoriais realizados na rotina foram fatores limitantes para seu uso e interpretação.

A avaliação da ingestão de macro e micronutrientes demonstrou que o grupo de adolescentes com APLV IgE mediada apresenta menor ingestão de cálcio e fósforo, entretanto, a suplementação de cálcio entre os casos fez com que essa diferença fosse resolvida. Destaca-se que há baixa ingestão de cálcio para ambos os grupos, mesmo considerando a suplementação. De maneira semelhante, estudo de Nachshon et al. (2014) demonstrou que os adultos jovens com APLV IgE mediada apresentaram menor ingestão de cálcio do que controles e ambos os grupos apresentaram ingestão abaixo do recomendado. Estudos de Jensen et al. (2004) e Boaventura et al. (2019) também verificaram menor ingestão de cálcio entre crianças com APLV em comparação com controles. Da mesma forma, Medeiros et al. (2004) verificaram menor ingestão de cálcio e fósforo em crianças com APLV em comparação com controles.

O cálcio é o micronutriente com maior evidência científica de sua relação com a saúde óssea (Grau A de evidência). Estudos demonstram que a suplementação de cálcio, tanto na forma medicamentosa como em alimentos fortificados, promove aumento consistente em medidas de massa e densidade ósseas em crianças e adolescentes, usualmente entre 1,0 e 5,0% (Weaver et al. 2016). Em vista disso, é importante atentar-se para o consumo de cálcio na dieta, à necessidade de suplementação e a adesão ao tratamento.

Quanto ao fósforo dietético, possivelmente o cálculo de ingestão está subestimado, pois este não é um nutriente obrigatório por legislação na rotulagem de produtos industrializados (ANVISA, 2023). Em especial para adolescentes, é importante considerar os efeitos deletérios do consumo excessivo de produtos industrializados contendo aditivos à base de fósforo, especialmente refrigerantes à base de cola, pois o alto consumo pode prejudicar a formação e retenção da massa óssea (Weaver et al. 2016; Serna e Bergwitz 2020).

A avaliação da saúde óssea pelo DXA demonstrou menor CMO e aDMO de coluna lombar e corpo inteiro. Esses dados confirmam estudos prévios que demonstraram comprometimento da aDMO de crianças e adolescentes com APLV (Hidvégi et al. 2003; Jensen et al. 2004; Maihlot et al. 2016; Nachshon et al. 2014). Mailhot et al. (2016) avaliaram crianças pré-púberes com APLV IgE mediada, constatando menor Z-escore de aDMO de coluna lombar em comparação com controles. Nachshon et al. (2014) avaliaram adultos jovens (16 anos ou mais, estágio de Tanner V) e verificaram menor Z-escore de aDMO quadril, colo do fêmur e coluna lombar em comparação com controles. Entretanto, nenhum estudo foi realizado especificamente com adolescentes, estratificados por sexo.

Apesar de ser constatada diferença no CMO do fêmur entre os grupos, em crianças e adolescentes, a análise nesta região óssea é menos confiável, devido ao crescimento e variabilidade no desenvolvimento do esqueleto, além de dificuldades técnicas de posicionamento e em identificar os limites ósseos (Brandão et al. 2009; Golden e Abrams, 2014).

Ressalta-se que, no presente estudo, se verificou baixa aDMO na coluna em dois casos e no corpo inteiro em três casos, mas em nenhum dos controles. Estes são os parâmetros mais recomendados em pediatria, destacando-se a

recomendação de excluir a cabeça, pois o esqueleto da cabeça é menos metabolicamente ativo, respondendo minimamente à intervenção (Guss et al. 2021).

Não existem estudos na literatura que utilizam a técnica da HR-pQCT em crianças e adolescentes com APLV. O presente estudo permitiu avaliar os compartimentos ósseos corticais e trabeculares, além da resistência óssea com acurácia e de forma não invasiva. A partir dos resultados, foi possível estimar as propriedades biomecânicas do osso (rigidez e carga suportada), verificando-se menor resistência óssea na região da tíbia e do rádio, na análise comparativa considerando a presença de menarca.

Esses dados fornecem informações adicionais à densitometria óssea, pois o risco de fraturas está associado a outros parâmetros além da aDMO (Fuller et al. 2014). Por razões técnicas, apenas os ossos periféricos podem ser avaliados e ainda não está claro se estas observações podem ser extrapoladas para o restante do esqueleto (Fuller et al. 2014, Fuusager et al. 2020). Apesar desta limitação, uma revisão sistemática e metanálise demonstrou que os resultados da HR-pQCT estiveram significativamente alterados em indivíduos que apresentaram fraturas, concluindo que existem evidências fortes que apoiam o uso da HR-pQCT para a predição do risco de fraturas na prática clínica (Mikolajewicz 2020).

É necessário o estabelecimento de curvas de normalidade para os parâmetros da HR-pQCT. Apesar de existirem publicações neste sentido, os resultados deste estudo não podem ser comparados com os valores de normalidade obtidos na metanálise de Matta-Mbemba et al. (2019) devido à diferença de idade dos participantes do estudo. Estudo de Gabel et al. (2018) estabeleceu curvas de normalidade para parâmetros estruturais e de resistência óssea para meninos e meninas entre 10 a 21 anos, entretanto, os dados disponíveis são apenas para raça branca e asiática, também não sendo possível comparar com o presente estudo.

Nos últimos anos surgiram alguns estudos com crianças, adolescentes e adultos jovens que demonstram comprometimento da microarquitetura óssea, em condições como lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil (Paupitz et al. 2016), raquitismo hipofosfatêmico ligado ao X (Colares Neto et al. 2017), anorexia nervosa (Singhal et al. 2018), obesidade (Singhal et al. 2019), síndrome de Alagille (Kindler et al., 2020) e diabetes tipo 1 (Fuussager et al. 2020). Braun et al. 2017, verificaram leve comprometimento da microarquitetura óssea na região da tíbia em pacientes

com fibrose cística. Em contraste, Louazon et al. (2021) não verificaram diferença na microarquitetura óssea de crianças e adolescentes recebendo nutrição parenteral por período prolongado em comparação com controles saudáveis.

Prejuízo na resistência óssea foi constatado nos estudos com pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil (Paupitz et al. 2016), anorexia nervosa (Singhal et al. 2018), obesidade (Singhal et al. 2019) e diabetes tipo 1 (Fuusager et al. (2020).

Misra et al. (2020) avaliaram o impacto da cirurgia bariátrica (técnica Sleeve) em adolescentes e adultos jovens sobre a saúde óssea após 12 meses do procedimento. Verificou-se prejuízo na microarquitetura óssea em comparação com controles, entretanto a estimativa de resistência óssea permaneceu estável, possivelmente devido à diminuição simultânea da porosidade cortical e aumento da DMO volumétrica cortical.

Nenhum destes estudos envolve modificações dietéticas como a restrição de LV e derivados. São necessários mais estudos para avaliar possíveis efeitos da dieta sobre a microarquitetura e resistência óssea.

Nosso estudo apresenta como destaque a avaliação da saúde óssea pela HR-pQCT e a casuística de pacientes com tempo prolongado em dieta de exclusão de leite e derivados, permitindo avaliar as consequências do tratamento em longo prazo. O emparelhamento pela maturação sexual e sexo feminino permitiu obter grupos homogêneos quanto às características demográficas, antropométricas e clínicas, sendo mais homogeneizado após o emparelhamento pela menarca.

Limitações do estudo envolvem o número de casos e controles devido aos critérios de inclusão. Além disso, o desenho transversal impossibilita estabelecer relação entre causa e efeito. Também é importante destacar que a avaliação da alimentação por meio de dois registros de 24 horas reflete apenas a dieta atual, não sendo possível avaliar o impacto de anos de dieta de exclusão sobre a saúde óssea.

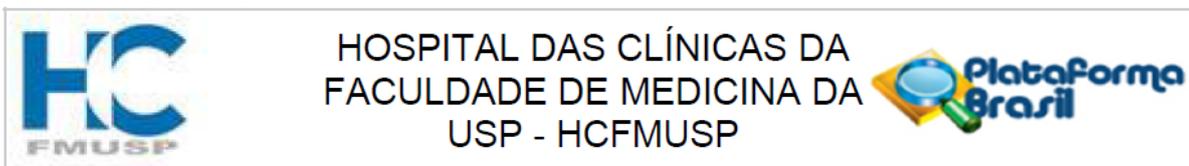
Os resultados deste estudo corroboram com demais estudos existentes da literatura e adicionam o conhecimento sobre o comprometimento da microarquitetura óssea. Apesar das limitações, demonstramos a importância do acompanhamento nutricional destes pacientes, das substituições adequadas, avaliação da necessidade de suplementação e monitoramento da saúde óssea com o objetivo de minimizar os efeitos futuros de dietas muito restritivas em pacientes com APLV.

Mais estudos são necessários para avaliar o impacto em longo prazo do comprometimento da saúde óssea em crianças e adolescentes com APLV, bem como os fatores associados.

## **6. CONCLUSÕES**

1. **Adolescentes do sexo feminino com APLV IgE mediada persistente em dieta de exclusão por tempo prolongado apresentaram comprometimento da saúde óssea em comparação com controles saudáveis.**
2. **As adolescentes em dieta de exclusão total apresentaram pior perfil ósseo em comparação com as adolescentes em dieta de exclusão parcial.**
3. **Houve maior proporção de alteração dos níveis de cortisol entre as adolescentes com APLV IgE mediada persistente em comparação com controles saudáveis.**
4. **Em comparação com controles saudáveis, verificou-se menor CMO de coluna lombar e de corpo inteiro e menor aDMO de coluna lombar e de corpo inteiro pela avaliação do DXA.**
5. **Ao considerar a presença de menarca, as adolescentes com APLV IgE mediada persistente apresentaram menor DMO volumétrica total e trabecular em comparação com controles saudáveis**
6. **Ao considerar a presença de menarca, a análise do FE demonstrou menor resistência óssea na região da tíbia e do rádio entre as adolescentes com APLV IgE mediada persistente em comparação com controles saudáveis.**

## **7. ANEXOS**

**ANEXO A: Aprovação do comitê de ética****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de crianças e adolescentes com alergia ao leite de vaca

**Pesquisador:** ANTONIO CARLOS PASTORINO

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 48558315.4.0000.0068

**Instituição Proponente:** HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

**Patrocinador Principal:** FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.336.861

**Apresentação do Projeto:**

Protocolo com duração de 3 anos para realização de tese de Doutorado a ser realizado no ICR com colaboração com a Disciplina de Reumatologia, em pacientes entre 5 e 18 anos com alergia a lactose. O grupo controle, será composto de indivíduos saudáveis, sem restrições alimentares, pareados por gênero, idade e maturação sexual.

**Objetivo da Pesquisa:**

Avaliar através de DMO e uCT o impacto da dieta sem leite sobre a qualidade óssea de crianças e adolescentes.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

os riscos são mínimos e de métodos invasivos somente a punção venosa para a retirada de sangue destinado a dosagens de marcadores de formação e reabsorção óssea.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Protocolo bem desenhado que será encaminhado à FAPESP para obtenção de financiamento (94000,00R\$).

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos estão apresentados. O TCLE está claro para o paciente

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

**Bairro:** Cerqueira Cesar

**CEP:** 05.403-010

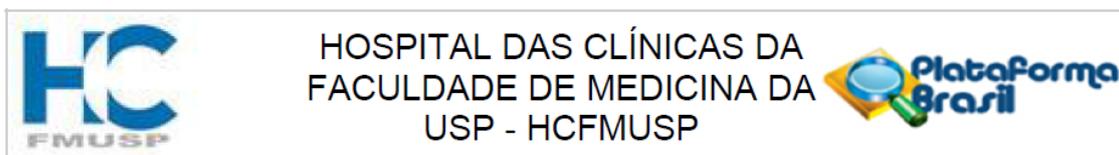
**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)2661-7585

**Fax:** (11)2661-7585

**E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 1.336.861

**Recomendações:**

em função da idade das crianças recomenda-se a inclusão de um termo de assentimento, no qual se especifique além da punção, o tempo e como são os outros exames que podem ser desconfortáveis para a criança.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

retorno para termo de assentimento

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_521859.pdf	24/08/2015 16:34:38		Aceito
Outros	Anuencia_Reumatologia.pdf	24/08/2015 16:34:11	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_521859.pdf	15/06/2015 14:56:46		Aceito
Outros	Cadastro on line.pdf	15/06/2015 14:55:20		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE doutorado 22.02.15.doc	15/06/2015 14:54:17		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto doutorado 23.04.15.doc	15/06/2015 14:53:54		Aceito
Folha de Rosto	Folha de rosto.pdf	15/06/2015 14:53:29		Aceito

**Situação do Parecer:**

Pendente

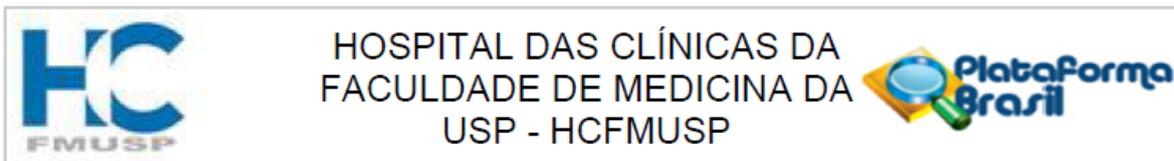
**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO PAULO, 25 de Novembro de 2015

Assinado por:  
**ALFREDO JOSE MANSUR**  
(Coordenador)

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
**Bairro:** Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de crianças e adolescentes com alergia ao leite de vaca

**Pesquisador:** ANTONIO CARLOS PASTORINO

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 48558315.4.0000.0068

**Instituição Proponente:** HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

**Patrocinador Principal:** FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.481.563

#### Apresentação do Projeto:

protocolo com duração de 3 anos para realização de tese de Doutorado a ser realizado no ICR com colaboração com a Disciplina de Reumatologia, em pacientes entre 5 e 18 anos com alergia a lactose. O grupo controle, será composto de indivíduos saudáveis, sem restrições alimentares, pareados por gênero, idade e maturação sexual. Em 11 de fevereiro de 2016 o pesquisador responsável encaminha nova versão do protocolo (2) em atendimento às solicitações da CAPPESQ exaradas em novembro de 2015.

#### Objetivo da Pesquisa:

Avaliar através de DMO e uCT o impacto da dieta sem leite sobre a qualidade óssea de crianças e adolescentes.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

os riscos são mínimos e de métodos invasivos somente a punção venosa para a retirada de sangue destinado a dosagens de marcadores de formação e reabsorção ossea.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

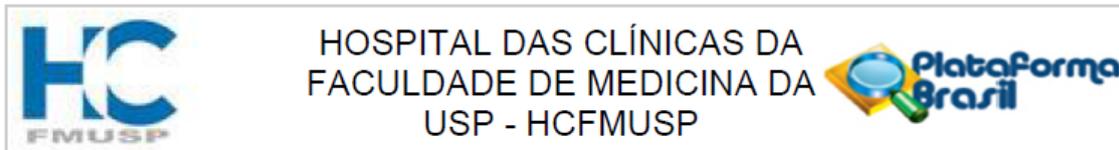
Os novos termos de assentimento para os menores estão muito bem construídos e são específicos para o que se propõe. Foram anexados diferentes TCLE: •TCLE – Pais/ Responsável – versão 1.1 de

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010

UF: SP Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 1.481.563

01-fev-2016; •TCLE – Pais/ Responsável – Grupo Controle - versão 1.0 de 01-fev-2016; •TALE – 7 a 12 anos – versão 1.0 de 01-fev-2016; •TALE – 7 a 12 anos – Grupo controle - versão 1.0 de 01-fev-2016;•TALE – 13 a 17 anos – versão 1.0 de 01-fev-2016; • TALE – 13 a 17 anos – Grupo Controle - versão 1.0 de 01-fev-2016

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Nenhuma

**Recomendações:**

não há

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Consideramos atendida as pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c)apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_521859.pdf	11/02/2016 17:03:05		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Assentimento_13_17anos_V_01Fev16.pdf	11/02/2016 17:01:23	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Assentimento_13_17anos_V_01Fev16.doc	11/02/2016 17:01:13	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Assentimento_13_17anos_GControle_V_01Fev16.pdf	11/02/2016 17:01:01	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010  
 UF: SP Município: SAO PAULO  
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
FACULDADE DE MEDICINA DA  
USP - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 1.481.563

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Assentimento_13_17anos_GControl_V_01Fev16.doc	11/02/2016 17:00:34	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Assentimento_7_12anos_V_01Fev16.pdf	11/02/2016 17:00:20	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Assentimento_7_12anos_V_01Fev16.doc	11/02/2016 17:00:08	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Assentimento_7_12anos_GControl_V_01Fev16.pdf	11/02/2016 16:59:53	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Assentimento_7_12anos_GControl_V_01Fev16.doc	11/02/2016 16:59:42	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Pais_Gcontrol_V_01Fev16.doc	11/02/2016 16:59:14	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_GControl_V_01Fev16.pdf	11/02/2016 16:57:16	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
Outros	Resposta_CEP_CAPPesq_11Fev16.docx	11/02/2016 16:56:49	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
Outros	Resp_Parecer_CEP_11Fev16.pdf	11/02/2016 16:56:01	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_doutorado_11_02_16.doc	11/02/2016 16:28:45	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_01Feb16.pdf	11/02/2016 16:19:54	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
Outros	Anuencia_Reumatologia.pdf	24/08/2015 16:34:11	ANTONIO CARLOS PASTORINO	Aceito
Outros	Cadastro on line.pdf	15/06/2015 14:55:20		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto doutorado 23.04.15.doc	15/06/2015 14:53:54		Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

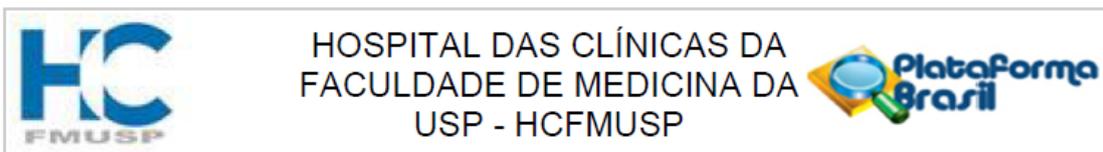
UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 1.481.563

Folha de Rosto	Folha de rosto.pdf	15/06/2015 14:53:29		Aceito
----------------	--------------------	------------------------	--	--------

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO PAULO, 07 de Abril de 2016

---

**Assinado por:**  
**ALFREDO JOSE MANSUR**  
(Coordenador)

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
**Bairro:** Cerqueira Cesar      **CEP:** 05.403-010  
**UF:** SP      **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)2661-7585      **Fax:** (11)2661-7585      **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

## ANEXO B: Termo de consentimento livre e esclarecido

TCLE – Pais/ Responsável

1

### HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

##### DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME: .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: . M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE .....
- CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....
2. RESPONSÁVEL LEGAL .....
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....).....

##### DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: “Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca”
2. PESQUISADOR: **Antonio Carlos Pastorino**  
 CARGO/FUNÇÃO: **Médico** INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 41829  
 UNIDADE DO HCFMUSP: **Instituto da Criança – Hospital das Clínicas - HCFMUSP**
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
- RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO
- RISCO BAIXO  RISCO MAIOR
4. DURAÇÃO DA PESQUISA : **3 ANOS**

Versão 1.1 de 01 de fevereiro de 2016 - Instituto da Criança - HCFMUSP

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável\_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador\_\_\_\_\_

## **HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**1 – Desenho do estudo e objetivo(s):** o objetivo deste estudo é avaliar o impacto da dieta de exclusão de leite de vaca sobre a saúde do osso de crianças com alergia ao leite de vaca;

**2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros:** nós gostaríamos de convidar você a participar do estudo para uma avaliação nutricional e da estrutura óssea de seu (sua) filho(a) com alergia ao leite de vaca. Se o(a) Sr(a) concordar em participar, será necessário assinar este termo de consentimento antes de iniciarmos o estudo. Serão realizados exames de imagem (densitometria óssea e tomografia computadorizada) e de laboratório (sangue) para avaliar a saúde do osso. Também será aplicado um questionário para caracterizar a população estudada e avaliar fatores que influenciam a saúde do osso. Os dados serão analisados e após a conclusão, publicados e apresentados em eventos da área, sem qualquer revelação de sua identidade;

**3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados:** consulta com nutricionista, exame de sangue (cerca de 12 ml) e de imagem (densitometria óssea e tomografia computadorizada), semelhantes ao um raio-x;

**4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3:** pode ocorrer um pouco de dor para colher o exame de sangue e o local da coleta pode ficar roxo, os exames de imagem podem ser desconfortáveis por ter que ficar parado (sem se mexer) por alguns minutos;

**5 – Benefícios para o participante:** não há benefícios diretos a seu filho, mas com o melhor entendimento do impacto da dieta de exclusão para a saúde do osso de crianças com alergia ao leite de vaca, poderemos contribuir para um melhor acompanhamento aos pacientes com alergia ao leite de vaca;

**6 – Procedimentos alternativos:** não há;

**7 – Garantia de acesso:** em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O orientador da pesquisa é o **Dr Antonio Carlos Pastorino** que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 647 – 7º. Andar, Unidade de Alergia e Imunologia. Telefone: 2661-8585. O pesquisador executante é **Glauce Hiromi Yonamine, CRN 13781**, que pode ser encontrada no mesmo endereço - 1º Andar, sala 23. Telefone 2661-8524. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 – e-mail: [cappesq.adm@hc.fm.usp.br](mailto:cappesq.adm@hc.fm.usp.br);

**8 – Liberdade de retirar seu consentimento:** o(a) Sr(a) é livre para desistir a qualquer momento desse estudo, sem dar explicações, mas isto não afetará de nenhuma maneira a qualidade de tratamento que seu filho recebe em nossa Unidade.

**9 – Direito de confidencialidade:** as informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

TCLE – Pais/ Responsável

3

**10 – Resultados da pesquisa:** o(a) Sr(a) tem direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais e finais desta pesquisa.

**11 – Despesas e compensações:** não há despesas pessoais para o(a) Sr(a) em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.

**12 – Compromisso do pesquisador:** eu me comprometo a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

### **HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO- HCFMUSP**

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “**Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca**”

Eu discuti com **Glauce Hiromi Yonamine** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

-----  
Assinatura do paciente/representante legal      Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

-----  
Assinatura da testemunha      Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

*(Somente para o responsável do projeto)*

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

-----  
Assinatura do responsável pelo estudo      Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Versão 1.1 de 01 de fevereiro de 2016 - Instituto da Criança - HCFMUSP

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável \_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador \_\_\_\_\_

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP  
TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME: .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....
2. RESPONSÁVEL LEGAL .....
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....).....

**DADOS SOBRE A PESQUISA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **“Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca”**
2. PESQUISADOR : **Antonio Carlos Pastorino**  
CARGO/FUNÇÃO: Médico      INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 41829  
UNIDADE DO HCFMUSP: **Instituto da Criança – Hospital das Clínicas - HCFMUSP**
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
- RISCO MÍNIMO                       RISCO MÉDIO
- RISCO BAIXO    X                      RISCO MAIOR
4. DURAÇÃO DA PESQUISA : **3 ANOS**

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**TITULO DO ESTUDO:** "Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca"

Nós gostaríamos de convidar você para participar de um estudo especial. O seu médico, seu pai, sua mãe e/ou a pessoa que cuida de você considera sua participação neste estudo importante para conseguirmos entender melhor o que acontece com a saúde do seu osso devido à retirada do leite e derivados da sua alimentação. Além da explicação do médico responsável pelo estudo e deste documento, queremos que você tire todas as dúvidas que tiver. Você pode fazer perguntas a qualquer momento.



**O que é esse estudo?**

Estamos fazendo este estudo para podermos melhorar o tratamento das crianças com alergia ao leite de vaca. Outras crianças serão convidadas a participar deste estudo também.



**O que acontecerá neste estudo?**

Se você concordar em participar do estudo vamos copiar informações do seu prontuário quanto aos seus dados pessoais e do histórico da alergia alimentar. Você passará em consulta com nutricionista (cerca de 20 minutos) para avaliar sua alimentação. Será realizada uma coleta de sangue de mais ou menos uma colher de sobremesa (12 mL) no seu braço, isto levará em torno de 5 minutos. Para conseguirmos saber se o seu osso está forte, faremos dois exames de imagem, semelhante a tirar uma fotografia dentro de uma máquina.



**Vai doer?**

A coleta de sangue pode causar alguma dor no local e também a presença de hematoma (mancha roxa no braço). Os exames de imagem podem ser desconfortáveis por ter que ficar parado (sem se mexer) por alguns minutos.



**Despesas e compensações?**

Termo de Assentimento (7 a 12 anos)

3

Você e sua família não vão receber dinheiro para participar do estudo. Vocês não vão ter que pagar e não terão que pagar pelos exames que você vai fazer.



### O que acontece se eu não quiser participar do estudo?

Você não precisa participar do estudo se você não quiser. Se você decidir fazer parte e depois mudar de ideia, você pode sair na hora que você quiser. Para isso você só precisa falar para os seus pais/representantes legais e para o médico. Eles não ficarão bravos com você.

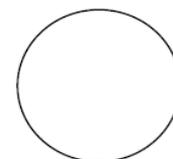


### E se eu tiver mais dúvidas?

Não se preocupe. Se você tiver alguma dúvida, não tenha medo de conversar com a nutricionista e o médico pesquisador, eles não ficarão chateados. Se você preferir, pode perguntar para seu pai, sua mãe ou para a pessoa que cuida de você.

Aqui está o nome e o número de telefone do seu médico: Dr Antonio Carlos Pastorino, nº telefone: (11) 2661-8585. A nutricionista responsável é a Glauce Hiromi Yonamine e o nº telefone: (11) 2661-8524. Se tiver outras dúvidas, como sobre seus direitos neste estudo entre em contato com o CEP - Rua Ovídio Pires de Campos, 225 - 5º andar - tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 - E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

Se você entendeu o que o médico te explicou, e se você quiser, pode escrever seu nome abaixo ou desenhar uma carinha feliz no círculo abaixo.



Seu nome \_\_\_\_\_

A criança disse que entendeu a explicação, mas não quis ou não é capaz de escrever ou desenhar a carinha feliz.

O médico que explicou este estudo precisa assinar abaixo:

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente para a participação neste estudo.

Nome em letra de forma \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_

Depois de completado, uma via para os Pais / Tutor e outra via para o médico do estudo.

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP  
TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

---

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME: .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....
2. RESPONSÁVEL LEGAL .....
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO.: ...../...../.....
- ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....).....
- 

**DADOS SOBRE A PESQUISA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **“Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca”**
2. PESQUISADOR : **Antonio Carlos Pastorino**  
CARGO/FUNÇÃO: **Médico** INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 41829  
UNIDADE DO HCFMUSP: **Instituto da Criança – Hospital das Clínicas - HCFMUSP**
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
- |   |                                      |
|---|--------------------------------------|
| RISCO MÍNIMO <input type="checkbox"/>           | RISCO MÉDIO <input type="checkbox"/> |
| RISCO BAIXO <input checked="" type="checkbox"/> | RISCO MAIOR <input type="checkbox"/> |
4. DURAÇÃO DA PESQUISA : **3 ANOS**

## **HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**TITULO DO ESTUDO:** "Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca"

### **1. O que significa assentimento?**

O assentimento significa que você concorda em fazer parte de um grupo de adolescentes para participar de uma pesquisa. Serão respeitados seus direitos e você receberá todas as informações por mais simples que possam parecer.

### **2. Porque estamos conversando com você?**

Gostaríamos de explicar a você sobre este estudo que estamos realizando. O seu médico, seu pai, sua mãe e/ou a pessoa que cuida de você considera sua participação neste estudo importante e concordou com sua participação nele, para entender melhor o que acontece com a saúde do seu osso devido à retirada do leite e derivados da sua alimentação. Antes de você começar a participar do estudo, é importante que você leia e entenda por que este estudo está sendo feito e quais os procedimentos dele.

### **3. Por que estamos realizando este estudo?**

Estamos fazendo este estudo para podermos melhorar o tratamento das crianças com alergia ao leite de vaca. Outros adolescentes serão convidados a participar deste estudo também.

### **4. O que acontecerá neste estudo?**

Se você concordar em participar do estudo vamos copiar informações do seu prontuário quanto aos seus dados pessoais e do histórico da alergia alimentar. Você passará em consulta com nutricionista (cerca de 20 minutos) para avaliar sua alimentação. Será realizada uma coleta de sangue de mais ou menos uma colher de sobremesa (12 mL) no seu braço, isto levará em torno de 5 minutos. Para conseguirmos saber se o seu osso está forte, faremos dois exames de imagem, semelhante a tirar uma fotografia dentro de uma máquina.

### **5. Eu tenho que participar?**

Você não precisa participar do estudo se você não quiser. Se você decidir fazer parte e depois mudar de ideia, você pode sair na hora que você quiser. Para isso você só precisa falar para os seus pais/representantes legais e para o médico. Eles não ficarão bravos com você. Participando deste estudo, você receberá essa folha de informações para guardar e deverá assinar esse documento para confirmar que você entendeu a explicação do médico sobre este estudo.

### **6. Sentirei dor ao participar do estudo?**

A coleta de sangue pode causar alguma dor no local e também a presença de hematoma (mancha roxa no braço). Os exames de imagem podem ser desconfortáveis por ter que ficar parado (sem se mexer) por alguns minutos.

### **7. Quem saberá que eu estou participando do estudo?**

Termo de Assentimento (13 a 17 anos)

3

Apenas as pessoas que trabalham no estudo saberão que você está participando dele. Todas as crianças/ adolescentes no estudo terão um número especial para identificação. Seu nome não será usado nas informações enviadas para fora do centro de pesquisa.

#### **8. Alguém mais verificou se o estudo está adequado para ser realizado?**

Antes de começar o estudo, um grupo de pessoas (grupo chamado "Comitê de Ética em Pesquisa") se reuniu para discutir o estudo e garantir que ele é seguro.

#### **9. E se eu tiver mais dúvidas?**

Não se preocupe. Se você tiver alguma dúvida, não tenha medo de conversar com a nutricionista e o médico pesquisador, eles não ficarão chateados. Se você preferir, pode perguntar para seu pai, sua mãe ou para a pessoa que cuida de você.

Aqui está o nome e o número de telefone do seu médico: Dr Antonio Carlos Pastorino, nº telefone: (11) 2661-8585. A nutricionista responsável é a Glauce Hiromi Yonamine e o nº telefone: (11) 2661-8524. Se tiver outras dúvidas, como sobre seus direitos neste estudo entre em contato com o CEP - Rua Ovídio Pires de Campos, 225 - 5º andar - tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 - E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

### **DECLARAÇÃO DE ASSENTIMENTO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA**

Eu li e discuti com o investigador responsável pelo presente estudo os detalhes descritos neste documento. Entendo que eu sou livre para aceitar ou recusar, e que posso interromper a minha participação a qualquer momento sem dar uma razão. Eu concordo que os dados coletados para o estudo sejam usados para o propósito acima descrito.

Eu entendi a informação apresentada neste TERMO DE ASSENTIMENTO. Eu tive a oportunidade para fazer perguntas e todas as minhas perguntas foram respondidas.

Após assinatura das duas vias **ORIGINAIS**, eu receberei uma delas e a outra ficará com o pesquisador. Todas as folhas, desse termo, deverão ser rubricadas por mim e pelo pesquisador.

---

NOME DO ADOLESCENTE	ASSINATURA	DATA
---------------------	------------	------

---

NOME DO PESQUISADOR	ASSINATURA	DATA
---------------------	------------	------

---

NOME DA TESTEMUNHA	ASSINATURA	DATA
--------------------	------------	------

Para casos de analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Depois de completado, uma via para os Pais / Tutor e outra via para o médico do estudo.

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CONTROLE**

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME: .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....
2. RESPONSÁVEL LEGAL .....
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE : ..... SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....

**DADOS SOBRE A PESQUISA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: “Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca”
2. PESQUISADOR : **Antonio Carlos Pastorino**  
CARGO/FUNÇÃO: **Médico** INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 41829  
UNIDADE DO HCFMUSP: **Instituto da Criança – Hospital das Clínicas - HCFMUSP**
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
- RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO
- RISCO BAIXO  RISCO MAIOR
4. DURAÇÃO DA PESQUISA : **3 ANOS**

## **HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**1 – Desenho do estudo e objetivo(s):** o objetivo deste estudo é avaliar o impacto da dieta de exclusão de leite de vaca sobre a saúde do osso de crianças com alergia ao leite de vaca;

**2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros:** nós gostaríamos de convidar você a participar do estudo para uma avaliação nutricional e da estrutura óssea de seu (sua) filho(a) para comparação com pacientes com alergia ao leite de vaca. Se o(a) Sr(a) concordar em participar, será necessário assinar este termo de consentimento antes de iniciarmos o estudo. Serão realizados exames de imagem (densitometria óssea e tomografia computadorizada) e de laboratório (sangue) para avaliar a saúde do osso. Também será aplicado um questionário para caracterizar a população estudada e avaliar fatores que influenciam a saúde do osso. Os dados serão analisados e após a conclusão, publicados e apresentados em eventos da área, sem qualquer revelação de sua identidade;

**3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados:** consulta com nutricionista, exame de sangue (cerca de 12 ml) e de imagem (densitometria óssea e tomografia computadorizada), semelhantes ao um raio-x;

**4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3:** pode ocorrer um pouco de dor para colher o exame de sangue e o local da coleta pode ficar roxo, os exames de imagem podem ser desconfortáveis por ter que ficar parado (sem se mexer) por alguns minutos;

**5 – Benefícios para o participante:** não há benefícios diretos a seu filho, mas com o melhor entendimento do impacto da dieta de exclusão para a saúde do osso de crianças com alergia ao leite de vaca, poderemos contribuir para um melhor acompanhamento aos pacientes com alergia ao leite de vaca;

**6 – Procedimentos alternativos:** não há;

**7 – Garantia de acesso:** em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O orientador da pesquisa é o **Dr Antonio Carlos Pastorino** que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 647 – 7º. Andar, Unidade de Alergia e Imunologia. Telefone: 2661-8585. O pesquisador executante é **Glauce Hiromi Yonamine, CRN 13781**, que pode ser encontrada no mesmo endereço - 1º Andar, sala 23. Telefone 2661-8524. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovidio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 – e-mail: [cappesq.adm@hc.fm.usp.br](mailto:cappesq.adm@hc.fm.usp.br);

**8 – Liberdade de retirar seu consentimento:** o(a) Sr(a) é livre para desistir a qualquer momento desse estudo, sem dar explicações, mas isto não implicará em quaisquer prejuízos.

**9 – Direito de confidencialidade:** as informações obtidas serão analisadas em conjunto com outras crianças e adolescentes, não sendo divulgada a identificação de ninguém.

**10 – Resultados da pesquisa:** o(a) Sr(a) tem direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais e finais desta pesquisa.

TCLE – Pais/ Responsável - Grupo Controle

3

**11 – Despesas e compensações:** não há despesas pessoais para o(a) Sr(a) em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.

**12 – Compromisso do pesquisador:** eu me comprometo a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **“Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca”**

Eu discuti com **Glauce Hiromi Yonamine** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

-----  
Assinatura do paciente/representante legal      Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

-----  
Assinatura da testemunha      Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

*(Somente para o responsável do projeto)*

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

-----  
Assinatura do responsável pelo estudo      Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Versão 1.0 de 01 de fevereiro de 2016 - Instituto da Criança - HCFMUSP

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável\_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador\_\_\_\_\_

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CONTROLE**

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME: .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....
2. RESPONSÁVEL LEGAL .....
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....).....

**DADOS SOBRE A PESQUISA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **“Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca”**
2. PESQUISADOR : **Antonio Carlos Pastorino**  
CARGO/FUNÇÃO: Médico      INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 41829  
UNIDADE DO HCFMUSP: **Instituto da Criança – Hospital das Clínicas - HCFMUSP**
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
- RISCO MÍNIMO                       RISCO MÉDIO
- RISCO BAIXO    X                              RISCO MAIOR
4. DURAÇÃO DA PESQUISA : **3 ANOS**

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**TÍTULO DO ESTUDO: "Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca"**

Nós gostaríamos de convidar você para participar de um estudo especial. O médico, seu pai, sua mãe e/ou a pessoa que cuida de você considera sua participação neste estudo importante para conseguirmos entender melhor o que acontece com a saúde do osso devido à retirada do leite e derivados da alimentação de crianças com alergia ao leite de vaca. Além da explicação do médico responsável pelo estudo e deste documento, queremos que você tire todas as dúvidas que tiver. Você pode fazer perguntas a qualquer momento.



**O que é esse estudo?**

Estamos fazendo este estudo para podermos melhorar o tratamento das crianças com alergia ao leite de vaca. Outras crianças saudáveis serão convidadas a participar deste estudo também.



**O que acontecerá neste estudo?**

Se você concordar em participar do estudo vamos pedir para seu ou sua mãe responder um questionário para saber seus dados pessoais. Você passará em consulta com nutricionista (cerca de 20 minutos) para avaliar sua alimentação. Será realizada uma coleta de sangue de mais ou menos uma colher de sobremesa (12 mL) no seu braço, isto levará em torno de 5 minutos. Para conseguirmos saber como está seu osso, faremos dois exames de imagem, semelhante a tirar uma fotografia dentro de uma máquina.



**Vai doer?**

A coleta de sangue pode causar alguma dor no local e também a presença de hematoma (mancha roxa no braço). Os exames de imagem podem ser desconfortáveis por ter que ficar parado (sem se mexer) por alguns minutos.



**Despesas e compensações?**

Você e sua família não vão receber dinheiro para participar do estudo. Vocês não vão ter que pagar e não terão que pagar pelos exames que você vai fazer.



### O que acontece se eu não quiser participar do estudo?

Você não precisa participar do estudo se você não quiser. Se você decidir fazer parte e depois mudar de ideia, você pode sair na hora que você quiser. Para isso você só precisa falar para os seus pais/representantes legais e para o médico. Eles não ficarão bravos com você.

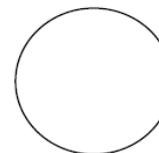


### E se eu tiver mais dúvidas?

Não se preocupe. Se você tiver alguma dúvida, não tenha medo de conversar com a nutricionista e o médico pesquisador, eles não ficarão chateados. Se você preferir, pode perguntar para seu pai, sua mãe ou para a pessoa que cuida de você.

Aqui está o nome e o número de telefone do seu médico: Dr Antonio Carlos Pastorino, nº telefone: (11) 2661-8585. A nutricionista responsável é a Glauce Hiromi Yonamine e o nº telefone: (11) 2661-8524. Se tiver outras dúvidas, como sobre seus direitos neste estudo entre em contato com o CEP - Rua Ovídio Pires de Campos, 225 - 5º andar - tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 - E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

Se você entendeu o que o médico te explicou, e se você quiser, pode escrever seu nome abaixo ou desenhar uma carinha feliz no círculo abaixo.



Seu nome \_\_\_\_\_

A criança disse que entendeu a explicação, mas não quis ou não é capaz de escrever ou desenhar a carinha feliz.

O médico que explicou este estudo precisa assinar abaixo:

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente para a participação neste estudo.

Nome em letra de forma \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_

Depois de completado, uma via para os Pais / Tutor e outra via para o médico do estudo.

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CONTROLE**

---

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME: .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....
2. RESPONSÁVEL LEGAL .....
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....
- 

**DADOS SOBRE A PESQUISA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **“Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca”**
2. PESQUISADOR : **Antonio Carlos Pastorino**
- CARGO/FUNÇÃO: **Médico** INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 41829
- UNIDADE DO HCFMUSP: **Instituto da Criança – Hospital das Clínicas - HCFMUSP**
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
- RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO
- RISCO BAIXO  RISCO MAIOR
4. DURAÇÃO DA PESQUISA : **3 ANOS**

## **HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**TITULO DO ESTUDO:** “Avaliação da densidade mineral e microarquitetura óssea de pacientes com alergia ao leite de vaca”

### **1. O que significa assentimento?**

O assentimento significa que você concorda em fazer parte de um grupo de adolescentes para participar de uma pesquisa. Serão respeitados seus direitos e você receberá todas as informações por mais simples que possam parecer.

### **2. Porque estamos conversando com você?**

Gostaríamos de explicar a você sobre este estudo que estamos realizando. O seu médico, seu pai, sua mãe e/ou a pessoa que cuida de você considera sua participação neste estudo importante e concordou com sua participação nele, para entender melhor o que acontece com a saúde do osso devido à retirada do leite e derivados da alimentação de adolescentes com alergia ao leite de vaca. Antes de você começar a participar do estudo, é importante que você leia e entenda por que este estudo está sendo feito e quais os procedimentos dele.

### **3. Por que estamos realizando este estudo?**

Estamos fazendo este estudo para podermos melhorar o tratamento das crianças com alergia ao leite de vaca. Outros adolescentes serão convidados a participar deste estudo também.

### **4. O que acontecerá neste estudo?**

Se você concordar em participar do estudo vamos perguntar seus dados pessoais. Você passará em consulta com nutricionista (cerca de 20 minutos) para avaliar sua alimentação. Será realizada uma coleta de sangue de mais ou menos uma colher de sobremesa (12 mL) no seu braço, isto levará em torno de 5 minutos. Para conseguirmos saber se o seu osso está forte, faremos dois exames de imagem, semelhante a tirar uma fotografia dentro de uma máquina.

### **5. Eu tenho que participar?**

Você não precisa participar do estudo se você não quiser. Se você decidir fazer parte e depois mudar de ideia, você pode sair na hora que você quiser. Para isso você só precisa falar para os seus pais/representantes legais e para o médico. Eles não ficarão bravos com você. Participando deste estudo, você receberá essa folha de informações para guardar e deverá assinar esse documento para confirmar que você entendeu a explicação do médico sobre este estudo.

### **6. Sentirei dor ao participar do estudo?**

A coleta de sangue pode causar alguma dor no local e também a presença de hematoma (mancha roxa no braço). Os exames de imagem podem ser desconfortáveis por ter que ficar parado (sem se mexer) por alguns minutos.

### **7. Quem saberá que eu estou participando do estudo?**

Termo de Assentimento (13 a 17 anos) – grupo controle

3

Apenas as pessoas que trabalham no estudo saberão que você está participando dele. Todas as crianças/ adolescentes no estudo terão um número especial para identificação. Seu nome não será usado nas informações enviadas para fora do centro de pesquisa.

#### 8. Alguém mais verificou se o estudo está adequado para ser realizado?

Antes de começar o estudo, um grupo de pessoas (grupo chamado "Comitê de Ética em Pesquisa") se reuniu para discutir o estudo e garantir que ele é seguro.

#### 9. E se eu tiver mais dúvidas?

Não se preocupe. Se você tiver alguma dúvida, não tenha medo de conversar com a nutricionista e o médico pesquisador, eles não ficarão chateados. Se você preferir, pode perguntar para seu pai, sua mãe ou para a pessoa que cuida de você.

Aqui está o nome e o número de telefone do seu médico: Dr Antonio Carlos Pastorino, nº telefone: (11) 2661-8585. A nutricionista responsável é a Glauce Hiromi Yonamine e o nº telefone: (11) 2661-8524. Se tiver outras dúvidas, como sobre seus direitos neste estudo entre em contato com o CEP - Rua Ovídio Pires de Campos, 225 - 5º andar - tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 - E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

### DECLARAÇÃO DE ASSENTIMENTO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA

Eu li e discuti com o investigador responsável pelo presente estudo os detalhes descritos neste documento. Entendo que eu sou livre para aceitar ou recusar, e que posso interromper a minha participação a qualquer momento sem dar uma razão. Eu concordo que os dados coletados para o estudo sejam usados para o propósito acima descrito.

Eu entendi a informação apresentada neste TERMO DE ASSENTIMENTO. Eu tive a oportunidade para fazer perguntas e todas as minhas perguntas foram respondidas.

Após assinatura das duas vias *ORIGINAIS*, eu receberei uma delas e a outra ficará com o pesquisador. Todas as folhas, desse termo, deverão ser rubricadas por mim e pelo pesquisador.

---

NOME DO ADOLESCENTE	ASSINATURA	DATA
---------------------	------------	------

---

NOME DO PESQUISADOR	ASSINATURA	DATA
---------------------	------------	------

---

NOME DA TESTEMUNHA	ASSINATURA	DATA
--------------------	------------	------

Para casos de analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Depois de completado, uma via para os Pais / Tutor e outra via para o médico do estudo.

Versão 1.0 de 01 de fevereiro de 2016 - Instituto da Criança - HCFMUSP

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável \_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador \_\_\_\_\_

**ANEXO C: Formulário utilizado para coleta de dados**

Data da [COLETA]:

[NOME] do paciente: \_\_\_\_\_

[GRUPO]: (1) APLV (2) Controle

[RGHC]: \_\_\_\_\_

[DN] Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

[CASA] Número de pessoas na casa: \_\_\_\_

[Renda] familiar per capita: \_\_\_\_\_

[TANNER]: \_\_\_\_\_ [MENARCA]: \_\_\_\_\_

[RAÇA]: (1) Branco (2) Pardo (3) Amarelo

Doenças associadas: (1) SIM e (2) NÃO

( ) [DA] Dermatite atópica ( ) [ASMA]

( ) [EoE] Esofagite eosinofílica ( ) [RINITE]

[PESO]: \_\_\_\_ kg

[EST] Estatura: \_\_\_\_ cm [zE/I]: \_\_\_\_

Classificação: \_\_\_\_\_

[IMC]: \_\_\_\_ kg/m<sup>2</sup> [zIMC/I]: \_\_\_\_

Classificação: \_\_\_\_\_

Dieta de exclusão [EXCL]:

( 1 ) Total ( 2 ) *Baked* ( 3 ) Pós-dessensibilização ( 4 ) Não faz

[TEXCL] Tempo de dieta de exclusão: \_\_\_\_\_

[SLV] Substituto para o leite de vaca: (1) SIM (2) NÃO

[MARCA]: \_\_\_\_\_

[VOL] Volume habitualmente consumido: \_\_\_\_\_

[LV]: Volume de leite de vaca (se pós-dessesibilização): \_\_\_\_\_

[CÁLCIO] Toma suplemento de cálcio? ( 1 ) Sim, \_\_\_\_ vezes/ semana

[CAFREQ] ( 2 ) Não

[CADOSE] Dose, horário?: \_\_\_\_\_

[CATEMPO] Há quanto tempo? \_\_\_\_\_

[FUMO] Tabagismo? ( 1 ) Sim ( 2 ) Não

Medicamentos:

[GLIC] Glicocorticoides (dose diária, tempo, frequência, via de administração):

(1) SIM (2) NÃO

[OMED]

Outros: \_\_\_\_\_

[SOL] Tempo de exposição solar?

Horas/semana: \_\_\_\_\_

[FRAT] Apresentou fratura de ossos?

( 1 ) Sim. [QFRAT] Quantas? \_\_\_\_\_ ( 2 ) Não

[LFRAT] Local: \_\_\_\_\_

[HFFRAT] História familiar de fratura por fragilidade?

( 1 ) Sim. ( 2 ) Não

[HFOST] História familiar de osteoporose?

( 1 ) Sim. ( 2 ) Não

[TAM] Tempo de aleitamento materno: \_\_\_\_\_

1º. Registro alimentar de 24 horas (horário, alimentos e quantidades):

2º. Registro alimentar de 24 horas (horário, alimentos e quantidades):

REVISÃO DE PRONTUÁRIO:

[1A CONS MED] Data da primeira consulta:

[INÍCIO EXCLLV] Data do início da dieta de exclusão:

[N CONS MED] Número de consultas médicas:

[N CONS NUTRI] Número de consultas com nutricionista:

[INÍCIO DESSENSA] Data de início da dessensibilização:

[DIA D] Data do dia D da dessensibilização:

[INÍCIO BAKED] Data de início da dieta *baked*:

## **8. REFERÊNCIAS**

Allen DB. Inhaled Corticosteroids and Endocrine Effects in Childhood. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2020 Dec;49(4):651-65.

Alvarenga JC, Caparbo VF, Domiciano DS, Pereira RMR. Age-related reference data of bone microarchitecture, volumetric bone density, and bone strength parameters in a population of healthy Brazilian men: an HR-pQCT study. *Osteoporos Int.* 2022 Jun;33(6):1309-21.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Perguntas & respostas: rotulagem nutricional de alimentos embalados. 2a ed. Brasília: ANVISA; 2023.

Bailey RL, Sahni S, Chocano-Bedoya P, Daly RM, Welch AA, Bischoff-Ferrari H, Weaver CM. Best Practices for Conducting Observational Research to Assess the Relation between Nutrition and Bone: An International Working Group Summary. *Adv Nutr.* 2019 May 1;10(3):391-409.

Barbosa CPG, Castro APM, Yonamine GH, Gushken AKF, Beck CML, Macedo PRC, Dorna MB, Santos CJN, Pastorino AC, Jacob CMA. Baked milk tolerant patient: Is there any special feature? *Allergol Immunopathol (Madr).* 2017 May-Jun;45(3):283-289.

Bierhals IO, Vaz JS, Menezes AMB, Wehrmeister FC, Pozza L, Assunção MCF. Milk consumption, dietary calcium intake and nutrient patterns from adolescence to early adulthood and its effect on bone mass: the 1993 Pelotas (Brazil) birth cohort. *Cad de Saúde Pública.* 2019;35(8):e00192418.

Black RE, Williams SM, Jones IE, Goulding A. Children who avoid drinking cow milk have low dietary calcium intakes and poor bone health. *Am J Clin Nutr.* 2002 Sep;76(3):675-80.

Blanco E, Burrows R, Reyes M, Lozoff B, Gahagan S, Albala C. Breastfeeding as the sole source of milk for 6 months and adolescent bone mineral density. *Osteoporos Int.* 2017 Oct;28(10):2823-2830. doi: 10.1007/s00198-017-4106-0.

Boaventura RM, Mendonça RB, Fonseca FA, Mallozi M, Souza FS, Sarni ROS. Nutritional status and food intake of children with cow's milk allergy. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2019 Nov-Dec;47(6):544-550.

Boutroy S, Van Rietbergen B, Sornay-Rendu E, Munoz F, Bouxsein ML, Delmas PD. Finite element analysis based on in vivo HR-pQCT images of the distal radius is associated with wrist fracture in postmenopausal women. *J Bone Miner Res.* 2008 Mar;23(3):392-9.

Brandão CM, Camargos BM, Zerbini CA, Plapler PG, Mendonça LM, Albergaria BH, Pinheiro MM, Prado Md, Eis SR. Posições oficiais 2008 da Sociedade Brasileira de Densitometria Clínica (SBDens) [2008 official positions of the Brazilian Society for Clinical Densitometry--SBDens]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009 Feb;53(1):107-12.

Brasil. Resolução SS n. 336, de 30/10/2007. Protocolo Clínico para Normatização da Dispensação de Fórmulas Infantis Especiais para pacientes com Alergia à Proteína do Leite de Vaca, atendidos pelo Sistema Único de Saúde – SUS, do Estado de São Paulo.

Braun C, Bacchetta J, Braillon P, Chapurlat R, Draï J, Reix P. Children and adolescents with cystic fibrosis display moderate bone microarchitecture abnormalities: data from high-resolution peripheral quantitative computed tomography. *Osteoporos Int.* 2017 Nov;28(11):3179-88.

Brozek JL, Firmino RT, Bognanni A, Arasi S, Ansotegui I, Assa'ad AH, Bahna SL, Canani RB, Bozzola M, Chu DK, Dahdah L, Dupont C, Dziechciarz P, Ebisawa M, Galli E, Horvath A, Kamenwa R, Lack G, Li H, Martelli A, Nowak-Węgrzyn A, Papadopoulos NG, Pawankar R, Roldan Y, Said M, Sánchez-Borges M, Shamir R, Spergel JM, Szajewska H, Terracciano L, Vandenplas Y, Venter C, Waffenschmidt S, Waserman S, Warner A, Wong GWK, Fiocchi A, Schünemann HJ. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guideline update - XIV - Recommendations on CMA immunotherapy. *World Allergy Organ J.* 2022 Apr 23;15(4):100646.

Cohen A, Dempster DW, Müller R, Guo XE, Nickolas TL, Liu XS, Zhang XH, Wirth AJ, van Lenthe GH, Kohler T, McMahon DJ, Zhou H, Rubin MR, Bilezikian JP, Lappe JM, Recker RR, Shane E. Assessment of trabecular and cortical architecture and mechanical competence of bone by high-resolution peripheral computed tomography: comparison with transiliac bone biopsy. *Osteoporos Int.* 2010 Feb;21(2):263-73.

Colares Neto GP, Pereira RM, Alvarenga JC, Takayama L, Funari MF, Martin RM. Evaluation of bone mineral density and microarchitectural parameters by DXA and HR-pQCT in 37 children and adults with X-linked hypophosphatemic rickets. *Osteoporos Int.* 2017 May;28(5):1685-92.

Crabtree NJ, Arabi A, Bachrach LK, Fewtrell M, El-Hajj Fuleihan G, Kecskemethy HH, Jaworski M, Gordon CM; International Society for Clinical Densitometry. Dual-energy X-ray absorptiometry interpretation and reporting in children and adolescents: the revised 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014 Apr-Jun;17(2):225-42.

Donaldson AA, Feldman HA, O'Donnell JM, Gopalakrishnan G, Gordon CM. Spinal Bone Texture Assessed by Trabecular Bone Score in Adolescent Girls With Anorexia Nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Sep;100(9):3436-42.

Fisberg RM, Villar BS. Manual de receitas e medidas caseiras para cálculos de inquéritos alimentares: manual elaborado para auxiliar o processamento de inquéritos alimentares. São Paulo: Signus; 2002.

Fox A, Brown T, Walsh J, Venter C, Meyer R, Nowak-Wegrzyn A, Levin M, Spawls H, Beatson J, Lovis MT, Vieira MC, Fleischer D. An update to the Milk Allergy in Primary Care guideline. *Clin Transl Allergy.* 2019 Aug 12;9:40.

Fuller H, Fuller R, Pereira RMR. Tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução para avaliação de parâmetros morfológicos e funcionais ósseos. *Rev Bras Reumatol.* 2018 Oct 11;55(4):352-62.

Fuusager G, Milandt N, Shanbhogue VV, Hermann AP, Schou AJ, Christesen HT. Lower estimated bone strength and impaired bone microarchitecture in children with type 1 diabetes. *BMJ Open Diabetes Res Care.* 2020 Aug;8(1):e001384.

Gabel L, Macdonald HM, Nettlefold LA, McKay HA. Sex-, Ethnic-, and Age-Specific Centile Curves for pQCT- and HR-pQCT-Derived Measures of Bone Structure and Strength in Adolescents and Young Adults. *J Bone Miner Res.* 2018 Jun;33(6):987-1000.

Goldberg MR, Nachshon L, Sinai T, Epstein-Rigbi N, Oren Y, Eisenberg E, Katz Y, Elizur A. Risk factors for reduced bone mineral density measurements in milk-allergic patients. *Pediatr Allergy Immunol.* 2018 Dec;29(8):850-6.

Golden NH, Abrams SA; Committee on Nutrition. Optimizing bone health in children and adolescents. *Pediatrics.* 2014 Oct;134(4):e1229-43.

Groetch M, Nowak-Wegrzyn A. Practical approach to nutrition and dietary intervention in pediatric food allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013; 24: 212–221.

Guss CE, McAllister A, Gordon CM. DXA in Children and Adolescents. *J Clin Densitom.* 2021 Jan-Mar;24(1):28-35.

Harvey NC, Glüer CC, Binkley N, McCloskey EV, Brandi ML, Cooper C, Kendler D, Lamy O, Laslop A, Camargos BM, Reginster JY, Rizzoli R, Kanis JA. Trabecular bone score (TBS) as a new complementary approach for osteoporosis evaluation in clinical practice. *Bone*. 2015 Sep;78:216-24.

Hidvégi E, Arató A, Cserhádi E, Horváth C, Szabó A, Szabó A. Slight decrease in bone mineralization in cow milk-sensitive children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003;36(1):44-9.

Ilfante D, Tormo R. Risk of inadequate bone mineralization in diseases involving long-term suppression of dairy products. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000 Mar;30(3):310-3.

Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, DC: The National Academies Press; 2011.

Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). Washington, DC: The National Academies Press; 2005.

Jensen VB, Jørgensen IM, Rasmussen KB, Mølgaard C, Prahl P. Bone mineral status in children with cow milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2004 Dec;15(6):562-5.

Kalkwarf HJ, Shepherd JA, Hans D, Gonzalez Rodriguez E, Kindler JM, Lappe JM, Oberfield S, Winer KK, Zemel BS. Trabecular Bone Score Reference Values for Children and Adolescents According to Age, Sex, and Ancestry. *J Bone Miner Res*. 2022 Apr;37(4):776-85.

Kindler JM, Mitchell EL, Piccoli DA, Grimberg A, Leonard MB, Loomes KM, Zemel BS. Bone geometry and microarchitecture deficits in children with Alagille syndrome. *Bone*. 2020 Dec;141:115576.

Koike Y, Sato S, Yanagida N, Asaumi T, Ogura K, Ohtani K, Imai T, Ebisawa M. Predictors of Persistent Milk Allergy in Children: A Retrospective Cohort Study. *Int Arch Allergy Immunol*. 2018;175(3):177-180.

Konstantynowicz J, Nguyen TV, Kaczmarek M, Jamiolkowski J, Piotrowska-Jastrzebska J, Seeman E. Fractures during growth: potential role of a milk-free diet. *Osteoporos Int*. 2007 Dec;18(12):1601-7.

Levy-Shraga Y, Megnazi O, Modan-Moses D, Tripto-Shkolnik L, Gruber N, Haberman Y, Shouval DS, Weiss B. Trabecular Bone Score in Children and

Adolescents With Inflammatory Bowel Diseases. *J Clin Densitom.* 2021 Apr-Jun;24(2):243-51.

Levy-Shraga Y, Tripto-Shkolnik L, David D, Vered I, Stein D, Modan-Moses D. Low trabecular bone score in adolescent female inpatients with anorexia nervosa. *Clin Nutr.* 2019 Jun;38(3):1166-1170.

Lima GL, Paupitz JA, Aikawa NE, Alvarenga JC, Pereira RMR. A randomized double-blind placebo-controlled trial of vitamin D supplementation in juvenile-onset systemic lupus erythematosus: positive effect on trabecular microarchitecture using HR-pQCT. *Osteoporos Int.* 2018 Mar;29(3):587-594.

Louazon T, Poinot P, Restier L, Belmalih A, Loras-Duclaux I, Marotte S, Heissat S, Barnoud D, Chambrier C, Confavreux CB, Lachaux A, Bacchetta J, Peretti N. A prospective case-control pilot study to evaluate bone microarchitecture in children and teenagers on long-term parenteral nutrition using HR-pQCT. *Sci Rep.* 2021 Apr 28;11(1):9151.

Luyt D, Ball H, Makwana N, Green MR, Bravin K, Nasser SM, Clark AT; Standards of Care Committee (SOCC) of the British Society for Allergy and Clinical Immunology (BSACI). BSACI guideline for the diagnosis and management of cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy.* 2014;44(5):642-72.

Mailhot G, Perrone V, Alos N, Dubois J, Delvin E, Paradis L, Des Roches A. Cow's Milk Allergy and Bone Mineral Density in Prepubertal Children. *Pediatrics* 2016 May;137(5).

Marangoni F, Pellegrino L, Verduci E, Ghiselli A, Bernabei R, Calvani R, Cetin I, Giampietro M, Perticone F, Piretta L, Giacco R, La Vecchia C, Brandi ML, Ballardini D, Banderali G, Bellentani S, Canzone G, Cricelli C, Faggiano P, Ferrara N, Flachi E, Gonnelli S, Macca C, Magni P, Marelli G, Marrocco W, Miniello VL, Origo C, Pietrantonio F, Silvestri P, Stella R, Strazzullo P, Troiano E, Poli A. Cow's Milk Consumption and Health: A Health Professional's Guide. *J Am Coll Nutr.* 2019 Mar-Apr;38(3):197-208.

Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child.* 1969 Jun;44(235):291-303.

Mata-Mbemba D, Rohringer T, Ibrahim A, Adams-Webberc T, Moineddin R, Doria AS, Vali R. HR-pQCT imaging in children, adolescents and young adults:

Systematic review and subgroup meta-analysis of normative data. *PLoS One*. 2019 Dec 13;14(12):e0225663.

Medeiros LCS, Speridião PGL, Sdepanian VL, Fagundes-Neto U, Morais MB. Ingestão de nutrientes e estado nutricional de crianças em dieta isenta de leite de vaca e derivados. *J Pediatr (Rio J)* 2004 Sep-Oct;80(5):363-70.

Mehaudy R, Jáuregui MB, Vinderola G, Guzmán L, Martínez J, Orsi M, Parisi C. Cow's milk protein allergy; new knowledge from a multidisciplinary perspective. *Arch Argent Pediatr*. 2022 Jun;120(3):200-206.

Mikolajewicz N, Bishop N, Burghardt AJ, Folkestad L, Hall A, Kozloff KM, Lukey PT, Molloy-Bland M, Morin SN, Offiah AC, Shapiro J, van Rietbergen B, Wager K, Willie BM, Komarova SV, Glorieux FH. HR-pQCT Measures of Bone Microarchitecture Predict Fracture: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Bone Miner Res*. 2020 Mar;35(3):446-459.

Misra M, Singhal V, Carmine B, Bose A, Kelsey MM, Stanford FC, Bram J, Aidlen J, Inge T, Bouxsein ML, Bredella MA. Bone outcomes following sleeve gastrectomy in adolescents and young adults with obesity versus non-surgical controls. *Bone*. 2020 May;134:115290.

Muniz LC, Menezes AM, Assunção MC, Wehrmeister FC, Martínez-Mesa J, Gonçalves H, Domingues MR, Gigante DP, Horta BL, Barros FC. Breastfeeding and bone mass at the ages of 18 and 30: prospective analysis of live births from the Pelotas (Brazil) 1982 and 1993 cohorts. *PLoS One*. 2015 Apr 16;10(4):e0122759.

Nachshon L, Goldberg MR, Schwartz N, Sinai T, Amitzur-Levy R, Elizur A, Eisenberg E, Katz Y. Decreased bone mineral density in young adult IgE-mediated cow's milk-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Nov;134(5):1108-13.e3.

National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. Dietary Reference Intakes for Energy. Washington, DC: The National Academies Press; 2023.

Pajno GB, Fernandez-Rivas M, Arasi S, Roberts G, Akdis CA, Alvaro-Lozano M, Beyer K, Bindslev-Jensen C, Burks W, Ebisawa M, Eigenmann P, Knol E, Nadeau KC, Poulsen LK, van Ree R, Santos AF, du Toit G, Dhimi S, Nurmatov U, Boloh Y, Makela M, O'Mahony L, Papadopoulos N, Sackesen C, Agache I, Angier E, Halcken S, Jutel M, Lau S, Pfaar O, Ryan D, Sturm G, Varga EM, van Wijk RG, Sheikh A,

Muraro A; EAACI Allergen Immunotherapy Guidelines Group. EAACI Guidelines on allergen immunotherapy: IgE-mediated food allergy. *Allergy*. 2018 Apr;73(4):799-815.

Paupitz JA, Lima GL, Alvarenga JC, Oliveira RM, Bonfa E, Pereira RM. Bone impairment assessed by HR-pQCT in juvenile-onset systemic lupus erythematosus. *Osteoporos Int*. 2016 May;27(5):1839-48.

Pedro AO, Plapler PG, Szenjfeld VL. Manual Brasileiro de Osteoporose: orientações práticas para os profissionais de saúde. São Paulo: Editora Clannad; 2021.

Pereira PC. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*. 2014 Jun;30(6):619-27.

Pinheiro ABV, Lacerda EMA, Benzecry EH, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras. 5a ed. São Paulo: Atheneu; 2005.

Rice JB, White AG, Scarpati LM, Wan G, Nelson WW. Long-term Systemic Corticosteroid Exposure: A Systematic Literature Review. *Clin Ther*. 2017 Nov;39(11):2216-2229.

Rockell JE, Williams SM, Taylor RW, Grant AM, Jones IE, Goulding A. Two-year changes in bone and body composition in young children with a history of prolonged milk avoidance. *Osteoporos Int*. 2005 Sep;16(9):1016-23. .

Rosa CSC, Messias KP, Fernandes RA, Silva CB, Monteiro HL, Júnior IFF. Atividade física habitual de crianças e adolescentes mensurada por pedômetro e sua relação com índices nutricionais. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum*. 2011Fev;13(1):22-8.

Salvador Castell G, Serra-Majem L, Ribas-Barba L. What and how much do we eat? 24-hour dietary recall method. *Nutr Hosp*. 2015 Feb 26;31 Suppl 3:46-8.

Sampson HA, Muñoz-Furlong A, Campbell RL, Adkinson NF Jr, Bock SA, Branum A, Brown SG, Camargo CA Jr, Cydulka R, Galli SJ, Gidudu J, Gruchalla RS, Harlor AD Jr, Hepner DL, Lewis LM, Lieberman PL, Metcalfe DD, O'Connor R, Muraro A, Rudman A, Schmitt C, Sicherer D, Simons FE, Thomas S, Wood JP, Decker WW. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report-Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network Symposium. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Feb;117(2):391-7

Serna J, Bergwitz C. Importance of Dietary Phosphorus for Bone Metabolism and Healthy Aging. *Nutrients*. 2020 Sep 30;12(10):3001.

Shevroja E, Lamy O, Kohlmeier L, Koromani F, Rivadeneira F, Hans D. Use of Trabecular Bone Score (TBS) as a Complementary Approach to Dual-energy X-ray Absorptiometry (DXA) for Fracture Risk Assessment in Clinical Practice. *J Clin Densitom*. 2017 Jul-Sep;20(3):334-45.

Silva BC, Bilezikian JP. Trabecular bone score: perspectives of an imaging technology coming of age. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2014 Jul;58(5):493-503.

Singhal V, Sanchita S, Malhotra S, Bose A, Flores LPT, Valera R, Stanford FC, Slattery M, Rosenblum J, Goldstein MA, Schorr M, Ackerman KE, Miller KK, Klibanski A, Bredella MA, Misra M. Suboptimal bone microarchitecture in adolescent girls with obesity compared to normal-weight controls and girls with anorexia nervosa. *Bone*. 2019 May;122:246-53.

Singhal V, Tulsiani S, Campoverde KJ, Mitchell DM, Slattery M, Schorr M, Miller KK, Bredella MA, Misra M, Klibanski A. Impaired bone strength estimates at the distal tibia and its determinants in adolescents with anorexia nervosa. *Bone*. 2018 Jan;106:61-8.

Sociedade Brasileira de Pediatria. Avaliação nutricional da criança e do adolescente – manual de orientação. Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento de Nutrologia. São Paulo: Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento de Nutrologia; 2009.

Sociedade Brasileira de Pediatria. Guia prático de atualização: osteoporose em crianças e adolescentes. Sociedade Brasileira de Pediatria: Departamento Científico de Endocrinologia; 2018. Disponível em: [https://www.sbp.com.br/fileadmin/user\\_upload/20222c-GPA\\_-\\_Osteoporose\\_em\\_Crian\\_e\\_Adoles.pdf](https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/20222c-GPA_-_Osteoporose_em_Crian_e_Adoles.pdf) (Acesso em 09.01.23).

Solé, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC et al. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2018 - Parte 1 - Etiopatogenia, clínica e diagnóstico. Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunologia. *Arq Asma Alerg Imunol*. 2018a;2(1):7-38.

Solé, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC et al. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2018 - Parte 2 – Diagnóstico, tratamento e

prevenção. Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunologia. *Arq Asma Alerg Imunol.* 2018b;2(1):39-82.

Takeda E, Yamamoto H, Yamanaka-Okumura H, Taketani Y. Increasing dietary phosphorus intake from food additives: potential for negative impact on bone health. *Adv Nutr.* 2014 Jan 1;5(1):92-7.

Topal E, Çeliksoy MH, Arga M, Kaynak MS, Duman Y, Demirtaş S, Alataş C, Tonbul H, Ökmen ZH, Dalkılıç HM. Independent predictive factors for the persistence and tolerance of cow's milk allergy. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2019 Jan;9(1):67-71.

Universidade Federal do Rio de Janeiro. Aleitamento materno: Prevalência e práticas de aleitamento materno em crianças brasileiras menores de 2 anos 4: ENANI 2019. - Documento eletrônico. - Rio de Janeiro, RJ: UFRJ; 2021. 108 p. (Coordenador geral, Gilberto Kac). Disponível em: <https://enani.nutricao.ufrj.br/index.php/relatorios/>. Acesso em: dd.mm.aaaa

Vanga SK, Raghavan V. How well do plant based alternatives fare nutritionally compared to cow's milk? *J Food Sci Technol.* 2018 Jan;55(1):10-20.

Weaver CM, Gordon CM, Janz KF, Kalkwarf HJ, Lappe JM, Lewis R, O'Karma M, Wallace TC, Zemel BS. The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations. *Osteoporos Int.* 2016 Apr;27(4):1281-6.

World Health Organization. de Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ.* 2007 Sep;85(9):660-7.

Yang AC, Penterich VRA, Pereira RM, Takayama L, Lazaretti-Castro M, Kalil J, Castro FFM. Avaliação da densidade mineral óssea em crianças com dermatite atópica moderada ou grave. *Braz J Allergy Immunol.* 2013;1(3):155-62.