

NATÁLIA RIBEIRO DE MAGALHÃES ALVES

ESTUDO DE PARÂMETROS CLÍNICOS E METABÓLICOS EM PACIENTES COM
EPIDERMÓLISE BOLHOSA HEREDITÁRIA E SUA RELAÇÃO COM A DENSIDADE
MINERAL ÓSSEA

BRASÍLIA, 2017

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

NATÁLIA RIBEIRO DE MAGALHÃES ALVES

ESTUDO DE PARÂMETROS CLÍNICOS E METABÓLICOS EM PACIENTES COM
EPIDERMÓLISE BOLHOSA HEREDITÁRIA E SUA RELAÇÃO COM A DENSIDADE
MINERAL ÓSSEA

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da
Universidade de Brasília.

Orientador: Luiz Cláudio Gonçalves de Castro

BRASÍLIA
2017

NATÁLIA RIBEIRO DE MAGALHÃES ALVES

ESTUDO DE PARÂMETROS CLÍNICOS E METABÓLICOS EM PACIENTES COM
EPIDERMÓLISE BOLHOSA HEREDITÁRIA E SUA RELAÇÃO COM A DENSIDADE
MINERAL ÓSSEA

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da
Universidade de Brasília.

Aprovado em _____ de _____ de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Cláudio Gonçalves de Castro
(Presidente)
Universidade de Brasília

Prof. Dra. Lenora Gandolfi
Universidade de Brasília

Prof. Dra. Izelda Maria Carvalho Costa
Universidade de Brasília

Prof. Dra. Carmen Déa Ribeiro de Paula – Suplente
Universidade de Brasília

Dedico este trabalho aos pacientes com Epidermólise Bolhosa Hereditária e a seus familiares.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu forças e perseverança para a conclusão deste trabalho.

A meus pais pelo incentivo.

Ao meu orientador, Dr Luiz Cláudio, pela paciência e dedicação.

Ao Laboratório Sabin, especialmente à Dra Janete, pela confiança depositada e pela realização da dosagem das citocinas.

Ao Dr Riccardo Pratesi por me ajudar no início desta jornada.

A todos os profissionais do Laboratório Interdisciplinar de Biociências da UnB que me ajudaram na realização deste trabalho.

A todos os pacientes que colaboraram com o estudo, pois sem sua participação não poderia aprender tanto sobre essa doença tão complexa.

“ Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota. “

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

Introdução: Epidermólise bolhosa hereditária (EBH) corresponde a um grupo de doenças clinicamente caracterizadas por fragilidade da pele e das mucosas, com consequente formação de bolhas aos mínimos traumas. Baixa densidade mineral óssea (DMO) e fraturas são potenciais complicações das formas graves de EBH e podem ter etiologia multifatorial. **Objetivos:** Avaliar variáveis clínico-antropométricas e metabólicas de pacientes com EBH acompanhados no Hospital Universitário de Brasília e estudar a relação dessas variáveis com a densidade mineral óssea areal (aDMO) dos pacientes. **Métodos:** Trata-se de um estudo observacional transversal envolvendo oito indivíduos com EBH, sendo seis do sexo feminino, três com EB simples (EBS), cinco com EB distrófica recessiva (EBDR), média de idade $16,4 \pm 8,3$ anos. Realizou-se história clínica, exame físico, avaliação antropométrica, avaliações metabólicas e densitometria óssea areal (DXA) da coluna lombar (L1-L4) e do corpo total nas crianças e adolescentes. Nos indivíduos com mais de 18 anos, além dos exames anteriores, também foi realizada a DXA do fêmur proximal. A aDMO de indivíduos com baixa estatura foi ajustada para idade-estatura. As possíveis correlações das variáveis clínicas e metabólicas com a aDMO foram avaliadas. **Resultados:** Nenhum paciente com EBS apresentou baixa estatura ou baixo índice de massa corporal (IMC). Quatro pacientes (três EBS) apresentaram mobilidade sem restrições. Apenas os pacientes com EBDR apresentaram anemia (média de hemoglobina $7,9 \pm 2,1$ g/dL), insuficiência de 25(OH)D (média $15,8 \pm 2,6$ ng/mL) e proteína C reativa (PCR) elevada (média $5,8 \pm 1,5$ mg/dL). A média da interleucina (IL) - 6 dos pacientes com EBDR ($38,9 \pm 19,9$ pg/mL) foi significativamente maior que a dos pacientes com EBS ($3,1 \pm 3,4$ pg/mL), $p = 0,014$. Três pacientes com EBDR apresentaram baixa massa óssea na coluna lombar corrigida para idade-estatura e nenhum paciente apresentou baixa massa óssea na avaliação do corpo total corrigida para idade-estatura. A aDMO de L1-L4 apresentou correlação fortemente positiva e significativa com o grau de mobilidade dos pacientes ($r = 0,86$ e $p = 0,013$), quando um *outlier* foi removido. Houve correlação forte e significativa entre a aDMO da coluna lombar com o IMC ($r = 0,79749$; $p = 0,0317$), concentrações séricas de 25(OH)D ($r = 0,80474$; $p = 0,0290$) e de hemoglobina ($r = 0,76887$; $p = 0,0434$). Houve correlação

fortemente positiva e significativa entre as concentrações séricas de IL-6 e PCR ($r = 0,86$; $p = 0,005$). Entretanto esses marcadores inflamatórios não apresentaram correlações estatisticamente significativas com a aDMO. Nenhuma correlação estatisticamente significativa foi encontrada entre a aDMO de corpo total corrigida para idade-estatura e as variáveis estudadas. **Conclusão:** Em relação aos pacientes com EBS, os pacientes com EBDR apresentam maior comprometimento da estatura e do estado nutricional, menores concentrações de 25(OH)D e de hemoglobina, além de valores mais elevados dos parâmetros inflamatórios. No grupo estudado, encontrou-se correlação positiva e significativa da aDMO da coluna lombar com o grau de mobilidade do paciente, o padrão nutricional, as concentrações séricas de vitamina D e hemoglobina.

Palavras-chave: epidermólise bolhosa hereditária; densidade mineral óssea; vitamina D; índice de massa corporal; marcadores inflamatórios.

ABSTRACT

Introduction: Hereditary epidermolysis bullosa (HEB) corresponds to a group of diseases clinically characterized by fragility of the skin and mucosa, with the consequent formation of blisters after minimal traumas. Low bone mineral density (BMD) and fractures are possible complications of the severe forms of HEB and may have multifactorial etiology. **Objectives:** To evaluate clinical, anthropometric and metabolic variables of patients with HEB followed at the Brasilia University Hospital and to study the correlation among those variables and the areal bone mineral density (aBMD) of the patients. **Methods:** This was a cross-sectional observational study involving eight individuals with HEB, consisting of six females, three with EB simplex (EBS), five with recessive dystrophic EB (RDEB), mean age 16.4 ± 8.3 years. A clinical history, physical examination, anthropometric evaluation, metabolic assessments and DXA of the lumbar spine (L1-L4) and of the total body in children and adolescents were performed. In individuals older than 18 years, in addition to the previous exams, DXA of the proximal femur was also performed. The aBMD of individuals with short stature was adjusted for age-stature. The possible correlations of clinical and metabolic variables with aBMD were evaluated. **Results:** No patient with EBS presented short stature or low body mass index (BMI). Four patients (three EBS) had normal mobility. Only patients with RDEB had anemia (mean hemoglobin 7.9 ± 2.1 g/dL), 25(OH)D insufficiency (mean 15.8 ± 2.6 ng/mL) and high C-reactive protein (CRP) (mean 5.8 ± 1.5 mg/dL). The mean interleukin (IL) -6 of patients with RDEB (38.9 ± 19.9 pg/mL) was significantly higher than that of patients with EBS (3.1 ± 3.4 pg/mL), $p = 0.014$. Three patients with RDEB presented low bone mass in the lumbar spine, corrected for age-stature, and no patient presented low bone mass when evaluating the total body corrected for age-stature. aBMD of L1-L4 showed a strongly positive and significant correlation with the degree of mobility of the patients ($r = 0.86$, $p = 0.013$), when an outlier was removed. There was a strong and significant correlation between lumbar spine aBMD and BMI ($r = 0.79749$, $p = 0.0317$), serum concentrations of 25(OH)D ($r = 0.80474$, $p = 0.0290$) and hemoglobin ($r = 0.76887$, $p = 0.0434$) There was a strong positive and significant correlation between the serum concentrations of IL-6 and CRP ($r = 0.86$, $p = 0.005$), but those inflammatory markers did not present statistically

significant correlations with aBMD. **Conclusion:** In relation to patients with EBS, patients with RDEB presented greater impairment of height and nutritional status, lower concentrations of 25(OH)vitamin D and hemoglobin levels, and higher values of inflammatory parameters. In the studied group, positive and significant correlations were found between aBMD of the lumbar spine and the degree of mobility of the patient, nutritional status and serum concentrations of vitamin D and hemoglobin.

Keywords: hereditary epidermolysis bullosa; bone mineral density; vitamin D; body mass index; inflammatory markers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Representação esquemática da pele, com a localização das proteínas envolvidas na patogênese da EBH e os níveis onde surgem as bolhas em cada tipo da doença.

Figura 2 Paciente do sexo feminino, 7 anos, com a forma EBS.

Figura 3 Crostas e manchas hiperocrômicas na face posterior das coxas de paciente do sexo masculino, 13 anos, com EBS.

Figura 4 Erosões e cicatrizes extensas no dorso e nos glúteos de criança do sexo feminino, 7 anos, com EBDR.

Figura 5 Pseudosindactilia e descamação das mãos de uma criança do sexo feminino, 12 anos, com EBDR.

Figura 6 Milia, manchas hiperocrômicas e hipocrômicas na face de uma criança do sexo feminino, 7 anos, com EBDR.

Figura 7 Simbléfaro no olho esquerdo de paciente do sexo feminino, 13 anos, com EBDR.

Figura 8 Microstomia e anquiloglossia em paciente do sexo feminino, 7 anos, com EBDR.

Figura 9 Paciente do sexo feminino, 7 anos, com EBDR. **A** Secreção amarelada na orelha esquerda. **B** Crostas e bolhas flácidas com conteúdo purulento na região posterior do pescoço. **C** Erosões e crostas amareladas na perna direita.

Figura 10 A. Pseudosindactilia da mão de paciente do sexo feminino, 16 anos, com EBDR. **B.** Pseudosindactilia do pé de paciente do sexo feminino, 7 anos, com EBDR.

Figura 11 Efeitos do tamanho ósseo nos resultados da DXA. Ossos menores (cubo A) terão uma aDMO menor, apesar de sua vDMO ser a mesma dos ossos maiores (cubo B).

Figura 12 Plotagem de idade-estatura

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais tipos e subtipos de EBH

Tabela 2 – Caracterização dos casos segundo sexo, identificação, idade e tipo de 29 epidermólise bolhosa, dos pacientes com EBH atendidos no ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do Hospital Universitário de Brasília durante o ano de 2016, Brasília, DF

Tabela 3 – Dados antropométricos e clínicos dos pacientes do estudo

Tabela 4 – Resultados de bioquímica e hemograma dos indivíduos estudados

Tabela 5 – Bioquímica osteomineral

Tabela 6 – Marcadores inflamatórios (PCR e IL-6)

Tabela 7 – Densidade mineral óssea avaliada pelo escore Z

Tabela 8 – Correlações entre as variáveis estudadas e o escore Z da aDMO de L1-L4 corrigido para idade-estatura

Tabela 9 – Correlações entre as variáveis estudadas e o escore Z da aDMO de corpo total corrigido para idade-estatura

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Parâmetros para aquisição e interpretação da DXA

Quadro 2 – Sumário dos exames laboratoriais realizados no estudo

Quadro 3 – Valores médios do escore Z da aDMO de L1-L4 e do corpo total corrigidos para idade-estatura, segundo a presença ou não de restrição de mobilidade

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABRASSO	Associação Brasileira para Avaliação Óssea e Osteometabolismo
ALT	Alanina Aminotransferase
APPEB-DF	Associação de Parentes, Amigos e Portadores de Epidermólise Bolhosa do Distrito Federal
AST	Aspartato Aminotransferase
Ca	Cálcio
CEC	Carcinoma espinocelular
CMO	Conteúdo mineral ósseo
DebRA	<i>Dystrophic Epidermolysis Bullosa Research Association</i>
7DHC	7-deidrocolesterol
DMO	Densidade mineral óssea
DMOa	Densidade mineral óssea areal
DMOv	Densidade mineral óssea volumétrica
DXA	Densitometria óssea (absorciometria por dupla emissão de Raios-X)
EB	Epidermólise bolhosa
EBD	Epidermólise bolhosa distrófica
EBDD	Epidermólise bolhosa distrófica dominante
EBDR	Epidermólise bolhosa distrófica recessiva
EBH	Epidermólise bolhosa hereditária
EBJ	Epidermólise bolhosa juncional
EBS	Epidermólise bolhosa simples
FA	Fosfatase alcalina
GGT	Gama-Glutamiltransferase
HFA	Hospital das Forças Armadas
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HUB	Hospital Universitário de Brasília
IMC	Índice de massa corporal
25OHD	25-hidroxi-vitamina D
IMM	Imunomapeamento
IL	Interleucina

IL-1 β	Interleucina – 1 beta
INF- γ	Interferon – gama
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
IRC	Insuficiência renal crônica
ISCD	International Society of Clinical Densitometry – Sociedade Internacional de Densitometria Clínica
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
Mg	Magnésio
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPG	Osteoprotegerina
P	Fósforo
PCR	Proteína C Reativa
PTH	Paratormônio
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B
RANK	Receptor ativador do fator nuclear kappa B
SBEM	Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
SK	Síndrome de <i>Kindler</i>
SAS	<i>Statistical Analysis Software</i>
TGI	Trato gastrointestinal
TNF- α	Fator de necrose tumoral – alfa
TNF- β	Fator de necrose tumoral – beta
UnB	Universidade de Brasília
VHS	Velocidade de hemossedimentação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 CLASSIFICAÇÃO	19
1.2 DIAGNÓSTICO	23
1.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	24
1.3.1 Principais Manifestações dos Tipos de EBH	24
1.3.1.1 Epidermólise Bolhosa Simples	24
1.3.1.2 Epidermólise Bolhosa Juncional	26
1.3.1.3 Epidermólise Bolhosa Distrófica	26
1.3.1.4 Síndrome de <i>Kindler</i>	29
1.3.2 Manifestações Extracutâneas	29
1.3.2.1 Manifestações Oculares	29
1.3.2.2 Manifestações Orais e Dentárias	30
1.3.2.3 Manifestações Gastrointestinais	31
1.3.2.4 Manifestações Geniturinárias	31
1.3.2.5 Manifestações da Orelha, do Nariz e da Laringe	32
1.3.2.6 Manifestações Cardíacas	32
1.3.2.7 Infecções	32
1.3.2.8 Anemia	33
1.3.2.9 Manifestações Musculoesqueléticas	33
1.4 IMPACTO DA EPIDERMÓLISE BOLHOSA NA MASSA ÓSSEA	34
1.4.1 Mobilidade	35
1.4.2 Desnutrição	36
1.4.3 Vitamina D	36
1.4.4 Inflamação	37
1.5 CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E MASSA ÓSSEA NA EPIDERMÓLISE BOLHOSA	38
1.6 AVALIAÇÃO DA MASSA ÓSSEA	41
2 OBJETIVOS	46
2.1 OBJETIVO GERAL	46
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
3 MÉTODOS	47
3.1 DESENHO DO ESTUDO	47
3.2 POPULAÇÃO E LOCAL DO ESTUDO	47
3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	48
3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	48
3.5 AVALIAÇÃO CLÍNICA E EXAMES COMPLEMENTARES	49
3.5.1 Variáveis Clínicas do Estudo	50
3.5.2 Dados Antropométricos	50
3.5.3 Coleta de Sangue e Dosagens Séricas	51
3.5.4 Densitometria Óssea	56
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	57
3.7 ASPECTOS ÉTICOS	57
4 RESULTADOS	58
4.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO DO ESTUDO	58

4.2 AVALIAÇÃO LABORATORIAL	60
4.2.1 Bioquímica e Hemograma	60
4.2.2 Bioquímica Osteomineral	61
4.2.3 Marcadores Inflamatórios	62
4.3 DENSITOMETRIA ÓSSEA	63
4.4 CORRELAÇÕES ESTATÍSTICAS ENTRE OS DADOS ESTUDADOS	64
5 DISCUSSÃO	68
5.1 ASPECTOS CLÍNICOS E METABÓLICOS	71
5.1.1 Achados Antropométricos	71
5.1.2 Desenvolvimento Puberal	71
5.1.3 Mobilidade.....	72
5.1.4 Alterações Laboratoriais	73
5.2 DENSIDADE MINERAL ÓSSEA E SUAS CORRELAÇÕES.....	77
5.2.1 Densidade Mineral Óssea.....	77
5.2.2 Densidade Mineral Óssea e Mobilidade	80
5.2.3 Densidade Mineral Óssea e Escore Z do IMC/I	81
5.2.4 Densidade Mineral Óssea e Vitamina D	82
5.2.5 Densidade Mineral Óssea e Hemoglobina.....	84
5.2.6 Densidade Mineral Óssea e Marcadores Inflamatórios	85
5.3 PONTOS POSITIVOS E LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	87
6 CONCLUSÃO	89
REFERÊNCIAS.....	91
APÊNDICES.....	99
APÊNDICE A - TCLE.....	100
APÊNDICE B – TCLE DE PAIS E RESPONSÁVEIS.....	102
APÊNDICE C – TERMO DE ASSENTIMENTO PARA CRIANÇAS (6-9 ANOS)...	104
APÊNDICE D – TERMO DE ASSENTIMENTO PARA CRIANÇAS (10-12 ANOS)	106
APÊNDICE E – TERMO DE ASSENTIMENTO PARA ADOLESCENTES	108
APÊNDICE F - PROTOCOLO DE PESQUISA.....	110
ANEXOS	112
ANEXO A – CONTRATO DE PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS DO LABORATÓRIO SABIN (página 1 de 3).....	113
ANEXO B – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FS-UNB	116
ANEXO C – AUTORIZAÇÃO PARA DIVULGAÇÃO DE IMAGEM EM MEIOS CIENTÍFICOS.....	119

1 INTRODUÇÃO

Epidermólise bolhosa hereditária (EBH) corresponde a um grupo de doenças caracterizadas por fragilidade da pele e das mucosas, com consequente formação de bolhas aos mínimos traumas (1, 2). Os primeiros relatos dessa doença a consideravam como pertencente ao grupo dos pênfigos. Em 1870 Von Hebra a descreveu como *pênfigo hereditário* ao relatar o caso de um paciente do sexo masculino com bolhas na pele após pequenos traumas desde a infância. Sua história familiar era positiva para três gerações sucessivas. O termo *epidermólise bolhosa* (EB) só foi descrito pela primeira vez por Koebner em 1886, para descrever o quadro clínico de quatro pacientes, uma mãe e seus três filhos. Os filhos apresentavam bolhas confinadas aos pés e ocasionalmente nas pernas, enquanto a mãe apresentava lesões nas mãos e ocasionalmente abaixo do corpete (3).

A EB pode ser classificada de acordo com sua base etiopatogênica em hereditária e adquirida. A forma adquirida de EB surge geralmente entre a quarta e a quinta década de vida, consequente à produção de anticorpos da classe IgG contra o colágeno tipo VII (4). Enquanto a EB hereditária (EBH) compreende um grupo heterogêneo de genodermatoses mecanobolhosas raras que apresentam ampla variabilidade fenotípica secundária às mutações que podem acometer os diferentes genes codificadores das várias proteínas estruturais da pele (1, 2, 5). As alterações moleculares resultantes determinam distintos comprometimentos estruturais e funcionais dos componentes de adesão intraepidérmicos ou de ancoramento dermoepidérmicos, o que facilita a perda da integridade cutânea (1).

A EBH pode causar forte impacto nas vidas dos pacientes e dos seus familiares, principalmente nas formas graves da doença, por causarem dor e limitação física, sofrimento emocional, prejuízo social e econômico (6).

A incidência da EB não é influenciada pela raça ou pelo sexo dos indivíduos e o percentual real de crianças nascidas com EB no mundo é desconhecido (6, 7). Esses dados são estimados por diferentes técnicas de amostragem em todo o mundo, mas as mais rigorosamente obtidas são as do Registro Nacional de EBH dos Estados Unidos, que realizou um estudo envolvendo 3300 pacientes com EBH durante 16 anos. Tais dados revelaram incidência de 19,57 casos por milhão de nascidos vivos entre 1986 e 2002, com prevalência de 11,07 casos por milhão de nascidos vivos naquele

país. Durante o referido período, a incidência de EBH por subtipo e por milhão de nascidos vivos foi de 7,87 casos de EB simples (EBS), 2,68 casos de EB juncional (EBJ), 2,12 casos de EB distrófica dominante (EBDD), 3,05 casos de EB distrófica recessiva (EBDR) e 1,48 casos de EB distrófica (EBD) com modo de transmissão desconhecido. Nos demais, 2,37 casos por milhão de nascidos vivos, o tipo de EBH era desconhecido (8).

Até o momento não existem dados literários precisos sobre prevalência e incidência da EBH no Brasil.

1.1 CLASSIFICAÇÃO

A primeira classificação formal da EBH foi realizada por Pearson em 1962 com o auxílio da microscopia eletrônica (9). Desde então, vários genes e fenótipos relacionados à doença foram identificados e descritos. Até o momento, são reconhecidos 19 genes envolvidos (10) e pelo menos 30 fenótipos diferentes de EBH foram descritos, cada um resultante das diferentes mutações nos genes que codificam proteínas estruturais da pele (11). A classificação atual (Figura 1) descreve quatro grupos maiores de EBH de acordo com o plano onde ocorre a clivagem na pele e as proteínas cujas síntese e função estão comprometidas (1, 12, 13):

- Epidermólise Bolhosa Simples (EBS): clivagem intraepidérmica, envolve as proteínas transglutaminase 5, placoglobina, queratinas 5 e 14, plectina, placofilina-1, exofilina 5, desmoplaquina e antígeno 1 do penfigóide bolhoso.
- Epidermólise Bolhosa Juncional (EBJ): clivagem na lâmina lúcida, envolve a laminina 332 (laminina 5), o colágeno tipo XVII, integrina $\alpha 6\beta 4$ e a subunidade $\alpha 3$ da integrina.
- Epidermólise Bolhosa Distrófica (EBD): clivagem na sublâmina densa, envolve o colágeno tipo VII.
- Mista ou Síndrome de Kindler (SK): clivagem em diferentes planos, envolve a kindlina I.

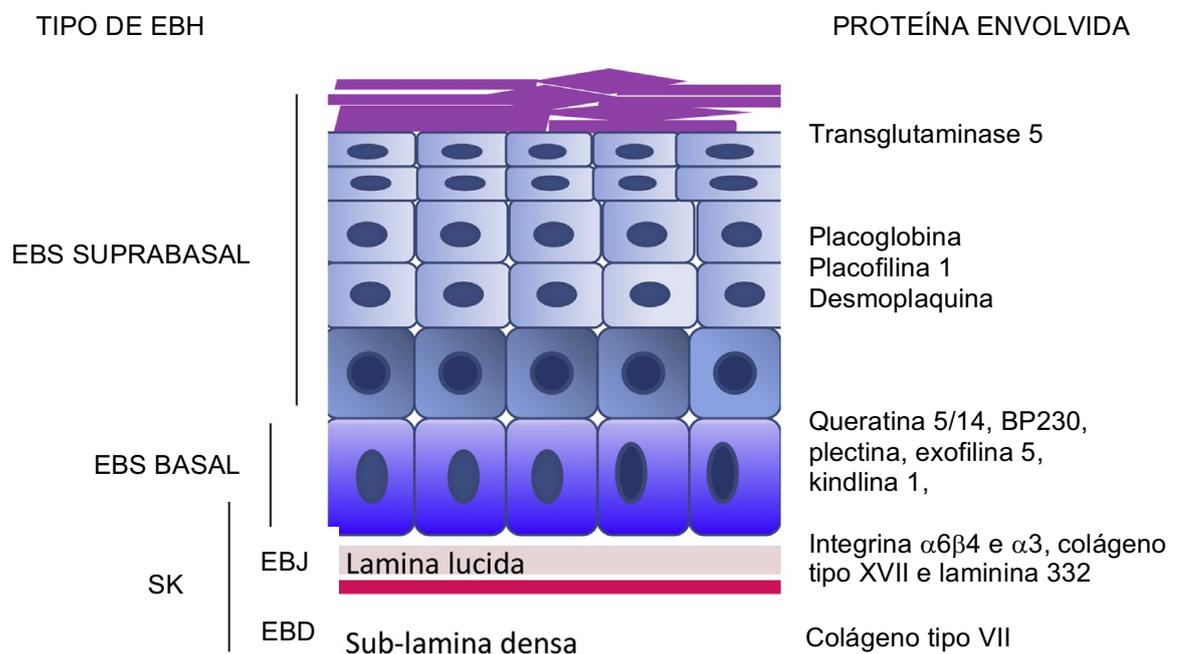


Figura 1 Representação esquemática da pele, com a localização das proteínas envolvidas na patogênese da EBH e os níveis onde surgem as bolhas em cada tipo da doença.

Fonte: Adaptado de Fine JD, Bruckner-Tuderman L, Eady RA, Bauer EA, Bauer JW, Has C, et al. Inherited epidermolysis bullosa: updated recommendations on diagnosis and classification. J Am Acad Dermatol. 2014;70(6):1103-26.

Esses tipos de EBH ainda são subdivididos em diversos subtipos. Uma classificação mais recente, denominada *onion skin*, propõe categorias baseadas no tipo de EBH, modo de herança, fenótipo (localizada ou generalizada, gravidade do comprometimento cutâneo e extracutâneo), achados de imunomapeamento e mutações apresentadas pelo paciente (12) (Tabela 1).

Tabela 1 – Principais tipos e subtipos de EBH

Tipo de EBH	Subtipos	Herança	Genes	Proteínas comprometidas	
EBS	Suprabasal				
	Deficiência de placofilina	AR	<i>PKP1</i>	Placofilina 1	
	Deficiência de desmoplaquina (fragilidade cutânea- Síndrome de <i>wooly hair</i>)	AR	<i>DSP</i>	Desmoplaquina	
	EBS acantolítica	AR	<i>DSP, JUP</i>	Desmoplaquina, placoglobina	
	Síndrome de descamação da pele acral	AR	<i>TGM5</i>	Transglutaminase 5	
	EBS superficial	AD	?	Desconhecida	
	Deficiência de placoglobina	AR	<i>JUP</i>	Placoglobina	
EBS	Basal				
	EBS localizada (<i>Weber-Cockayne</i>)	AD	<i>KRT5, KRT14</i>	Queratina 5, Queratina 14	
	EBS generalizada grave (<i>Dowling-Meara</i> , EBS herpetiforme)	AD	<i>KRT5, KRT14</i>	Queratina 5, Queratina 14	
	EBS generalizada intermediária (não <i>Dowling-Meara</i> , <i>Koebner</i>)	AD	<i>KRT5, KRT14</i>	Queratina 5, Queratina 14	
	EBS com pigmentação mosqueada e EBS circinada migratória	AD	<i>KRT5</i>	Queratina 5	
	EBS autossômica recessiva K14	AR	<i>KRT14</i>	Queratina 14	
	EBS com distrofia muscular	AR	<i>PLEC</i>	Plectina	
	EBS-Ogna	AD	<i>PLEC</i>	Plectina	
	EBS com atresia pilórica	AR	<i>PLEC</i>	Plectina e	
	EBS autossômica recessiva (deficiência de BP230)	AR	<i>ITGB4, ITGA6</i> <i>DST</i>	Integrina $\alpha6\beta4$ Antígeno 1 do penfigóide bolhoso (BPAG1; BP230)	
	EBS autossômica recessiva (deficiência de exofilina 5)	AR	<i>EXPH5</i>	Exofilina 5	
	EBJ	EBJ generalizada			
		EBJ generalizada grave (<i>Herlitz</i>)	AR	<i>LAMA3, LAMB3, LAMC2</i>	Laminina -332
EBJ generalizada intermediária (não- <i>Herlitz</i>)		AR	<i>LAMA3, LAMB3, LAMC2</i>	Laminina -332	
EBJ com atresia pilórica		AR	<i>COL17A1</i> <i>ITGB4, ITGA6</i>	Colágeno XVII Integrina $\alpha6\beta4$	
EBJ de início tardio		AR	<i>COL17A1</i>	Colágeno XVII	
EBJ com envolvimento respiratório e renal		AR	<i>ITGA3</i>	Integrina subunidade $\alpha3$	

Continua

Tipo de EBH	Subtipos	Herança	Genes	Proteínas comprometidas
	EBJ localizada			
	EBJ localizada	AD	<i>COL17A1</i> <i>ITGB4</i> <i>LAMA3</i> , <i>LAMB3</i> , <i>LAMC2</i>	Colágeno XVII Integrina $\alpha6\beta4$ Laminina -332
	EBJ inversa	AR	<i>LAMA3</i> , <i>LAMB3</i> , <i>LAMC2</i>	Laminina -332
	EBJ síndrome laringo-onico-cutânea	AR	<i>LAMA3A</i>	Laminina -332 subunidade $\alpha3$
EBD	EBD dominante (EBDD) generalizada (<i>Cockayne-Touraine e Pasini</i>)	AD	<i>COL7A1</i>	Colágeno VII
	EBD das unhas	AD	<i>COL7A1</i>	Colágeno VII
	EBD acral	AD, AR	<i>COL7A1</i>	Colágeno VII
	EBD pré-tibial	AD, AR	<i>COL7A1</i>	Colágeno VII
	EBD pruriginosa	AD, AR	<i>COL7A1</i>	Colágeno VII
	EBDD e EBD recessiva (EBDR), Dermólise bolhosa do recém nascido	AD, AR	<i>COL7A1</i>	Colágeno VII
	EBDR generalizada grave (<i>Hallopeau-Siemens</i>)	AR	<i>COL7A1</i>	Colágeno VII
	EBDR generalizada intermediária	AR	<i>COL7A1</i>	Colágeno VII
	EBDR localizada	AR	<i>COL7A1</i>	Colágeno VII
	EBDR inversa	AR	<i>COL7A1</i>	Colágeno VII
	EBDR centrípeta	AR	<i>COL7A1</i>	Colágeno VII
SK	Síndrome de <i>Kindler</i>	AR	<i>FERMT1</i> (<i>KIND1</i>)	Kindlina I

AR: autossômica recessiva, AD: autossômica dominante

Fonte: adaptado de Fine JD, Bruckner-Tuderman L, Eady RA, Bauer EA, Bauer JW, Has C, et al. Inherited epidermolysis bullosa: updated recommendations on diagnosis and classification. *J Am Acad Dermatol.* 2014;70(6):1103-26.

No acompanhamento de pacientes com EBH, o escore de Birmingham (Escore de Gravidade da Epidermólise Bolhosa) pode ser utilizado para avaliar a gravidade da doença de forma mais objetiva e reprodutível (14, 15). Nesse escore 11 itens são

pontuados, sendo 100 o total máximo de pontos. Os itens avaliados são distribuídos da seguinte maneira:

- 1: área de pele acometida por bolhas, erosões, eritemas e cicatrizes: 0 a 50 pontos;

- 2 a 11: envolvimento das unhas, boca, olhos, laringe, esôfago, cicatrizes nas mãos, câncer de pele, feridas crônicas, alopecia e comprometimento nutricional: 0 a 5 pontos para cada item.

1.2 DIAGNÓSTICO

Conhecendo-se a classificação da EBH, seu diagnóstico é baseado em dados clínicos e laboratoriais, na história familiar, incluindo história de consanguinidade dos pais do paciente, e a diferenciação dos subtipos é realizada por meio de estudos imuno-histoquímicos, ultraestruturais e genéticos. Entretanto, a análise genética não está disponível na maioria das cidades e serviços de assistência médica brasileiros (16, 17).

A subclassificação auxilia no aconselhamento genético, no estabelecimento do risco de comprometimento mucoso, de aparecimento de neoplasias e de morte prematura (16, 17).

O exame histopatológico obtido do material de biópsia de bolha íntegra é a ferramenta diagnóstica mais utilizada, mas não é confirmatório. Ele auxilia no diagnóstico diferencial com outras dermatoses bolhosas e na diferenciação entre a EBS, que tem clivagem intraepidérmica, e os outros tipos de EBH. Todavia, como tanto EBJ quanto EBD possuem planos de clivagem subepidérmicos, o exame anatomopatológico não consegue diferenciá-las (16, 18)

Para estabelecer os diversos planos de clivagem associados aos diferentes subtipos de EBH, são necessários os exames de imunomapeamento (IMM) e/ou a microscopia eletrônica de transmissão (MET) (2, 12, 17, 18).

A MET permite a visualização de alterações morfológicas ultraestruturais nos queratinócitos e na junção dermo-epidérmica típicas dos tipos e subtipos de EBH. No entanto, é um método dispendioso, que consome muito tempo para a execução e leitura, não permite visualizar a clivagem como um todo e está disponível apenas em

centros especializados (16, 18).

O IMM apresenta resultados com precisão semelhante à da MET com a vantagem da rapidez e da simplicidade na execução e na leitura, visualização da clivagem como um todo (16), menor custo e maior disponibilidade. Por utilizar anticorpos monoclonais específicos contra proteínas estruturais da zona da membrana basal e antígenos epidérmicos, o IMM possibilita a detecção dos níveis de clivagem, assim como a expressão protéica local (normal, reduzida ou ausente). Dessa forma, esse método permite identificar os tipos e subtipos de EBH (2, 12, 13).

Após a determinação do plano de clivagem e do perfil antigênico, a análise genética é recomendada, quando possível, por permitir uma subclassificação mais precisa e facilitar o aconselhamento genético (12).

1.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

As manifestações clínicas da EBH variam de acordo com o tipo e a gravidade da doença, podendo apresentar desde lesões discretas e localizadas até formas generalizadas com acometimento sistêmico importante (13).

1.3.1 Principais Manifestações dos Tipos de EBH

1.3.1.1 Epidermólise Bolhosa Simples

A EBS localizada (*Weber-Cockayne*) é o subtipo mais comum. As bolhas começam a surgir durante a infância ou adolescência após pequenos traumas, com lesões predominando nas mãos e nos pés. Geralmente não deixa cicatrizes atróficas e não há acometimento sistêmico, mas a mucosa oral pode ser acometida (12, 13).

Nos casos de EBS generalizada (Figuras 2 e 3) as lesões aparecem ao nascimento ou durante a primeira infância. Na EBS generalizada intermediária podem surgir despigmentação ou hiperpigmentação, acometimento variável da mucosa oral

e geralmente não há alterações sistêmicas. Já na forma generalizada grave (*Dowling-Meara*), as bolhas também surgem em várias regiões da pele, podendo ocorrer hiperqueratose palmoplantar e raramente a formação de milia, cicatrizes atróficas, distrofia ungueal ou anoníquia. O acometimento da mucosa oral é comum e algumas manifestações sistêmicas podem ser observadas como anemia, retardo no crescimento e constipação (12, 13).

A maioria dos pacientes com EBS apresenta um bom prognóstico e qualidade de vida relativamente boa desde que o tratamento das lesões seja instituído cedo e de forma eficaz. Subtipos mais raros como EBS acantolítica letal, EBS com distrofia muscular e EBS com atresia pilórica possuem pior prognóstico e podem levar à morte de forma mais precoce (2).



Figura 2 Pequenas erosões e crostas, além de algumas lesões residuais acrómicas predominando nos membros superiores de paciente do sexo feminino, 7 anos, com EBS.

Fonte: Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do Hospital Universitário de Brasília



Figura 3 Crostas e manchas hipercrômicas na face posterior das coxas de paciente do sexo masculino, 13 anos, com EBS.

Fonte: Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do Hospital Universitário de Brasília

1.3.1.2 Epidermólise Bolhosa Juncional

As EBJs apresentam bolhas ao nascimento, cicatrizes atróficas, distrofia ungueal, anoníquia, comprometimento da mucosa oral, cáries e hipoplasia do esmalte dentário (12).

Nas formas localizadas não há acometimento sistêmico, as lesões cutâneas são menos frequentes e com menor distribuição, enquanto nas formas generalizadas há tecido de granulação periorifical exuberante, alopecia, anemia, retardo do crescimento, comprometimento gastrointestinal, genitourinário, ocular e respiratório, principalmente nas formas graves (*Herlitz*) (2, 12, 13).

A EBJ generalizada grave (*Herlitz*) apresenta quase 100% de mortalidade nos primeiros anos de vida por sepse, pneumonia ou obstrução laringotraqueal (13). Já na EBJ generalizada intermediária as manifestações cutâneas e extracutâneas costumam ser mais leves, apresentando um prognóstico melhor, porém há maior risco de desenvolvimento de carcinoma espinocelular (CEC) (13).

1.3.1.3 Epidermólise Bolhosa Distrófica

As variantes mais comuns de EBD são: Epidermólise Bolhosa Distrófica

Dominante (EBDD), Epidermólise Bolhosa Distrófica Recessiva (EBDR) grave e EBDR intermediária (12, 18).

EBDD generalizada geralmente apresenta bom prognóstico e qualidade de vida relativamente boa (2, 18). As bolhas surgem ao nascimento ou durante a infância e a distribuição e o número das lesões podem diminuir com a idade (18). Pápulas hipopigmentadas agrupadas (lesões albopapulóides) são típicas (variante de *Pasini*), mas com frequência variável (12, 13). As bolhas são limitadas às áreas de trauma (mãos, pés, joelhos, cotovelos), gerando cicatrizes atróficas, milia e perda das unhas (2, 18). Pode haver envolvimento mucoso, mas os dentes são geralmente normais (18).

Pacientes com EBDR generalizada grave (*Hallopeau-Siemens*) apresentam bolhas por todo o corpo ao nascimento, resultando em cicatrizes extensas (Figura 4), distrofias ungueais, anoníquia, pseudosindactilia (Figura 5), milia, hipopigmentação ou hiperpigmentação (Figura 6).



Figura 4 Erosões e cicatrizes extensas no dorso e nos glúteos de criança do sexo feminino, 7 anos, com EBDR.

Fonte: Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do HUB.



Figura 5 Pseudosindactília e descamação das mãos de uma criança do sexo feminino, 12 anos, com EBDR.

Fonte: Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do HUB.



Figura 6 Milia, manchas eritematosas, hipercrômicas e hipocrômicas na face de uma criança do sexo feminino, 7 anos, com EBDR.

Fonte: Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do HUB.

Os cabelos dos pacientes com EBDR são esparsos e com alopecia cicatricial (12, 18). Entre as manifestações extracutâneas estão as lesões orais, cáries, microstomia, comprometimento gastrointestinal, distúrbios oculares, anemia, retardo do crescimento, atraso da puberdade, glomerulonefrite, nefropatia por IgA, amiloidose renal, cardiomiopatia, osteoporose entre outros. Além disso há risco aumentado de desenvolvimento de CEC, uma das principais causas de morte nesses pacientes, principalmente se houver metástases (2, 12, 13, 18). A incidência desse câncer aumenta dramaticamente a partir da segunda década de vida. Tumores múltiplos em locais de lesões crônicas são comuns e o câncer pode recorrer com frequência,

mesmo após excisões cirúrgicas agressivas (19).

A EBDR generalizada intermediária apresenta um prognóstico um pouco melhor, com manifestações similares às da EBDR generalizada grave, porém mais brandas e com menor frequência de CEC e de complicações renais (2, 18).

1.3.1.4 Síndrome de *Kindler*

Na Síndrome de *Kindler* (SK) as lesões surgem ao nascimento, inicialmente caracterizadas por bolhas acrais que ocorrem predominantemente na infância. Mais tarde predominam fotossensibilidade, poiquilodermia e atrofia cutânea extensa em áreas fotoexpostas. Há um risco aumentado para o desenvolvimento de CEC e podem ocorrer distrofias ungueais, anoníquia, ceratodermia, ectrópio, estenoses esofágicas e urogenitais, esofagite e colite. A mucosa oral também pode ser acometida e desordens como gengivite, hiperplasia gengival e periodontite são comuns (2, 12, 13).

1.3.2 Manifestações Extracutâneas

Muitas manifestações extracutâneas estão associadas a tipos de EBH mais graves e generalizados e podem trazer morbidade significativa aos pacientes (11). A seguir destacaremos algumas dessas manifestações.

1.3.2.1 Manifestações Oculares

Diversas manifestações oculares foram descritas na EBH, sendo explicadas, em parte, pelas similaridades bioquímicas e ultraestruturais entre a pele e a córnea (11).

A inflamação aguda e os danos à superfície ocular podem gerar injeção conjuntival, vermelhidão, lacrimejamento, fotofobia, bolhas, vesículas e erosões

corneanas. Alguns pacientes podem evoluir com lesões crônicas como cicatrizes na córnea, formação de *pannus*, simbléfaro (Figura 7), anquilobléfaro e ectrópio. Em casos sem o tratamento adequado pode haver perda progressiva da visão (11, 13, 20).



Figura 7 Simbléfaro no olho esquerdo de paciente do sexo feminino, 13 anos, com EBDR. Fonte: Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do HUB.

1.3.2.2 Manifestações Oraís e Dentárias

O surgimento de bolhas na mucosa oral é seguido pela formação de cicatrizes que resultam em microstomia e anquiloglossia (Figura 8). Os dentes também podem ser afetados, muitas vezes com comprometimento do esmalte, perda da superfície dentária pela erosão e doenças da gengiva. Todos esses fatores dificultam gravemente o consumo de alimentos (21).



Figura 8 Microstomia e anquiloglossia em paciente do sexo feminino, 7 anos, com EBDR.

Fonte: Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do HUB.

1.3.2.3 Manifestações Gastrointestinais

Alterações do trato gastrointestinal (TGI) causam complicações ao indivíduo pelo comprometimento nutricional, levando à anemia refratária, hipoalbuminemia, distúrbios disabsortivos e déficit de crescimento (11, 21, 22). Praticamente qualquer porção do TGI pode ser afetada pela doença, com exceção da vesícula biliar, fígado e pâncreas (11, 17).

O acometimento esofágico e gástrico pode resultar em doença do refluxo gastroesofágico, hérnia de hiato, gastrite e úlcera péptica (21), mas a complicação mais grave é a estenose de esôfago (11, 21, 17), que causa disfagia, odinofagia, e pode, nos casos mais graves, comprometer a deglutição de saliva (11, 21). As erosões intestinais podem levar à perda crônica de sangue e proteínas, contribuindo para o desenvolvimento de anemia, hipoalbuminemia, má absorção e retardo do crescimento (22).

A constipação é uma das manifestações clínicas mais comuns no paciente com EBH, sendo descrita em todos os tipos da doença e, principalmente, na EBDR. Essa manifestação geralmente é precedida pela defecação dolorosa causada por bolhas e fissuras perianais, fazendo com que o paciente tente reter as fezes para evitar a dor. Outros fatores que podem exacerbar a constipação são a suplementação de ferro, frequentemente necessária, e a baixa taxa de atividade física. Também são descritas complicações como perfuração colônica, estenose anal, prolapso retal, megacólon, fístulas perianais, síndrome do cólon irritável, doença diverticular e hemorróidas (11, 21).

1.3.2.4 Manifestações Geniturinárias

A formação recorrente de vesículas ao longo da uretra, da junção ureterovesical e dos ureteres pode obstruí-los e gerar hidronefrose. Os pacientes podem desenvolver insuficiência renal crônica (IRC) por hidronefrose, glomerulonefrite estreptocócica, amiloidose renal, nefropatia por IgA, entre outras (11,17).

1.3.2.5 Manifestações da Orelha, do Nariz e da Laringe

Bolhas, erosões e crostas são comuns, mas a complicação otorrinolaringológica mais grave é a oclusão parcial ou completa das vias aéreas superiores, geralmente como resultado de estenoses próximas às cordas vocais. Esta complicação é vista quase exclusivamente na EBJ generalizada e pode ocorrer no primeiro ano de vida (11, 17).

1.3.2.6 Manifestações Cardíacas

Cardiomiopatia dilatada é uma complicação incomum da EBH e o subtipo mais afetado é a EBDR generalizada grave (*Hallopeau-Siemens*). Seu curso pode ser fatal, especialmente nos pacientes com IRC associada. A etiologia da doença cardíaca parece ser multifatorial, incluindo desnutrição com deficiência de micronutrientes (carnitina e selênio), anemia, miocardite viral e sobrecarga de ferro por transfusão sanguínea (17, 19).

1.3.2.7 Infecções

Os pacientes com EBH, principalmente com as formas generalizadas, desenvolvem com frequência infecções cutâneas por apresentar extensas áreas de pele erodada (Figura 9). O agente etiológico mais comum é o *Staphylococcus aureus*. Já as infecções sistêmicas são bem menos comuns, apesar da sepse ser a principal causa de morte na infância dos pacientes com EBJ (17, 19).



Figura 9 Paciente do sexo feminino, 7 anos, com EBDR. **A** Secreção amarelada na orelha esquerda. **B** Crostas e bolhas flácidas com conteúdo purulento na região posterior do pescoço. **C** Erosões e crostas amareladas na perna direita.

Fonte: Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do HUB.

1.3.2.8 Anemia

A anemia constitui uma complicação comum da EBH, especialmente nos pacientes com formas generalizadas e graves da doença. Sua origem é multifatorial e pode ser explicada pela deficiência de ferro (perdas sanguíneas nas lesões, má absorção intestinal, baixa ingestão) e pela anemia da doença crônica, uma vez que as lesões em cicatrização e infecções geram maior circulação de citocinas capazes de suprimir a eritropoiese e diminuir a eficiência da utilização do ferro (19).

1.3.2.9 Manifestações Musculoesqueléticas

A pseudosindactilia (deformidade em luvas) das mãos e dos pés é uma complicação musculoesquelética comum dos pacientes com as formas mais graves de EBH, principalmente a EBDR generalizada grave. Inicialmente aparece uma membrana proximal entre os espaços interdigitais, que evolui até a completa união dos dígitos (Figura 10). Dessa forma, a função das mãos e a deambulação ficam prejudicados. Contraturas mais proximais com flexão dos joelhos e dos cotovelos podem ocorrer, dificultando ainda mais a mobilidade do paciente que, em alguns

casos, pode se tornar dependente de cadeira de rodas (19).

A intervenção cirúrgica pode melhorar a função dos membros, no entanto, são necessários procedimentos repetidos para preservá-la (17). Para evitar a formação das membranas e das contraturas, os dedos são envolvidos por luvas especiais para mantê-los separados e são utilizadas talas nas articulações (19).

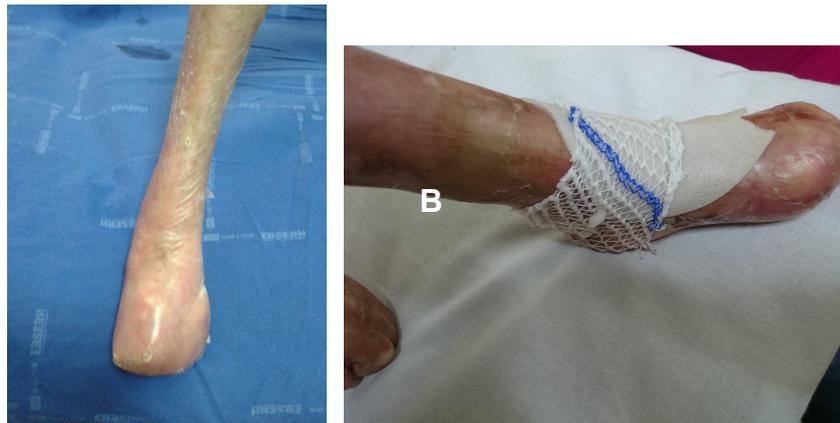


Figura 10 **A.** Pseudosindactilia da mão de paciente do sexo feminino, 16 anos, com EBDR. **B.** Pseudosindactilia do pé de paciente do sexo feminino, 7 anos, com EBDR. Fonte: Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do HUB.

No âmbito das manifestações musculares, existe uma forma de EBS com distrofia muscular que pode se iniciar ao nascimento, com significativa fraqueza muscular (*Floppy babies*), ou até mesmo ter início na idade adulta (17, 19).

1.4 IMPACTO DA EPIDERMÓLISE BOLHOSA NA MASSA ÓSSEA

A fisiologia óssea também pode ser acometida na EBH em graus variados. Baixa massa óssea, osteopenia, osteoporose e conseqüentemente comprometimento do crescimento, deformidades e fraturas ósseas podem ocorrer, particularmente nas formas mais graves e generalizadas da doença e em diferentes faixas etárias (19). Esse aspecto é relevante especialmente em crianças e adolescentes, pois encontram-se em fase de aquisição de massa óssea. De acordo com a gravidade desse acometimento os pacientes podem atingir um menor pico de massa óssea, que

corresponde à quantidade máxima de osso que o indivíduo atinge ao longo da vida e acontece por volta do término da segunda e início da terceira década de vida. O pico de massa óssea é a principal variável determinante da qualidade e saúde óssea nas demais décadas de vida (23). Se esse pico for inadequadamente baixo, pode colocar o indivíduo em risco de osteoporose, fraturas e suas comorbidades, comprometendo ainda mais a qualidade de vida.

Os fatores que interferem na formação óssea são classificados em intrínsecos e extrínsecos. Os primeiros incluem fatores hereditários (responsáveis por cerca de 80% do pico final de massa óssea), raça, sexo e fatores hormonais (hormônio de crescimento, fator de crescimento semelhante à insulina I, hormônio tireoidiano, estrógeno, testosterona, entre outros); já os fatores extrínsecos dizem respeito à nutrição, fatores mecânicos, hábitos, doenças crônicas e uso de medicamentos (24).

Até o momento poucos estudos avaliaram a fisiopatologia osteometabólica em crianças e adolescentes com EBH, todos com amostras de pacientes relativamente pequenas por causa da raridade da doença. Esses estudos concluíram que crianças com formas generalizadas de EBH comumente apresentam baixa densidade mineral óssea (DMO) (14, 25-28). No entanto, as mutações genéticas típicas da EB não afetam o tipo de colágeno presente no osso, predominantemente tipo 1, (26, 29, 30), o que sugere que as alterações ósseas não tenham causa genética, mas que sejam consequência das repercussões metabólicas sistêmicas, limitações de movimento e hábitos dos pacientes com EBH.

Muitos fatores permissivos, determinantes e contribuintes para o adequado desenvolvimento ósseo podem estar alterados em pacientes com as formas generalizadas de EBH, resultando em um estado de alta reabsorção e reduzida mineralização óssea (26, 29). Esses fatores são discutidos a seguir.

1.4.1 Mobilidade

Atividade física é fundamental para a adequada formação da massa óssea, uma vez que a carga mecânica promove estímulo trófico nesse tecido, entre outros fatores, ao inibir a síntese de esclerostina, que é uma proteína sintetizada pelos osteócitos e que estimula a atividade dos osteoclastos (células que reabsorvem o osso)

e inibe a atividade dos osteoblastos (células que formam a matriz óssea e estimulam sua mineralização) (31-33). Além disso, o nível de mobilidade do indivíduo é reconhecido como o melhor preditor da qualidade da massa óssea nos pacientes com EBH (26, 34). Entretanto muitos indivíduos, principalmente com as formas generalizadas, apresentam baixo peso (decorrente do comprometimento nutricional), astenia (decorrente da anemia), hipotrofia muscular, movimentos limitados por contraturas, fortes dores advindas de bolhas e erosões e dificuldade de se exercitarem e até de deambularem (27, 34). Esse quadro de mobilidade reduzida potencializa a síntese de esclerostina e, conseqüentemente, a atividade osteoclástica e a reabsorção óssea, e ao mesmo tempo inibe a atividade osteoblástica e a formação óssea (31-33).

1.4.2 Desnutrição

A desnutrição também é uma complicação frequente na EBH e que pode contribuir para a baixa DMO observada nesses pacientes, pela falta de substrato à formação óssea (proteínas e minerais). Há perda de sangue e proteínas nas erosões e uma alta demanda metabólica, gerada por lesões extensas e crônicas em cicatrização. Somados a isso estão a má absorção intestinal e a baixa ingestão protéico-calórica, situação justificada pelas lesões dolorosas nas mucosas oral e esofágica, a perda de dentes e a disfagia (27, 29).

1.4.3 Vitamina D

A concentração sérica e tecidual da forma ativa da vitamina D, o calcitriol, também é um fator determinante da saúde óssea, pois promove a absorção intestinal de cálcio e fósforo e regula de modo direto e indireto a reabsorção renal desses eletrólitos, que são os elementos formadores dos cristais de hidroxiapatita, responsável pela mineralização da matriz óssea. Para a formação do calcitriol uma série de reações fotoquímicas e químicas devem acontecer, permitindo que as

moléculas precursoras sejam convertidas na molécula ativa (35).

O processo de síntese e ativação da vitamina D se inicia com a incidência dos fótons dos raios ultravioleta B nas camadas profundas da derme, onde se encontra o depósito da molécula precursora da vitamina D, o 7-deidrocolesterol (7-DHC). A partir da reação fotoquímica, o 7-DHC se converte em pré-vitamina D₃, a qual, é termoinstável e sofre uma reação de isomerização induzida pelo calor, assumindo uma configuração espacial mais estável, a vitamina D₃ (ou colecalciferol). A energia estérica dessa nova conformação tridimensional da molécula a faz ser secretada para o espaço extracelular e ganhar a circulação sanguínea. O colecalciferol também pode ser adquirido pela dieta, assim como o ergocalciferol (ou vitamina D₂), que é o correspondente dos alimentos de origem vegetal. Essas moléculas D₂ e D₃ são hidroxiladas no fígado, convertendo-se em 25-hidroxi-vitamina D (25OHD), a qual é posteriormente hidroxilada nos rins em 1,25-diidroxivitamina D (1,25(OH)₂D), ou calcitriol (35, 36).

A deficiência de vitaminas D₂ e D₃ pode ser causada tanto pela má nutrição, que leva ao seu menor aporte nutricional, quanto pela redução da síntese de vitamina D₃ na pele, uma vez que o depósito de 7-DHC está diminuído devido às lesões dérmicas decorrentes da EB. Além disso, de acordo com a extensão da pele desses pacientes que está coberta por bandagens protetoras, esse processo de ativação fotoquímica do 7DHC pode encontrar-se ainda mais comprometido, com impacto nas concentrações séricas e teciduais de calcitriol e suas consequências na absorção de cálcio e fósforo (27, 34).

1.4.4 Inflamação

Pacientes com as formas mais graves de EBH geralmente desenvolvem um estado inflamatório sistêmico consequente às lesões crônicas e às infecções frequentes (26, 27, 34). Essa situação é corroborada pela detecção de altos níveis séricos de marcadores inflamatórios inespecíficos, como proteína C reativa (PCR), velocidade de hemossedimentação (VHS), ferritina e plaquetas (27, 34). Algumas citocinas que se encontram aumentadas nesse processo inflamatório apresentam atividade osteoclastogênica. O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), por exemplo,

estimula a formação e maturação de osteoclastos tanto diretamente como através do estímulo à síntese do ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa-B (RANKL), que é uma proteína que promove a diferenciação de pré-osteoclastos em osteoclastos maduros e consequente efeito catabólico no tecido ósseo (34). Esse aspecto será melhor detalhado no item a seguir.

1.5 CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E MASSA ÓSSEA NA EPIDERMÓLISE BOLHOSA

A natureza inflamatória da EBH ainda não está bem caracterizada (27). As correlações entre genótipo e fenótipo nem sempre são demonstradas; indivíduos com as mesmas mutações genéticas frequentemente apresentam manifestações clínicas diferentes (37, 38). Isto pode sugerir que outros fatores, além das mutações genéticas, possam ser significantes na gênese e evolução da EBH (38).

Altos níveis de autoanticorpos (anticolágeno tipo VII, anti-BP180, anti-BP230) podem ser detectados em alguns pacientes com EBH (37, 38). Apesar de seus papéis na patogênese não estarem esclarecidos, suas concentrações séricas e teciduais provaram estar significativamente relacionadas com o escore de gravidade de Birmingham, o que sugere uma relação entre a gravidade do fenótipo e mecanismos autoimunes (37, 39, 40). A ocorrência de amiloidose secundária e o envolvimento de outros órgãos, associados ao desequilíbrio dos níveis séricos das citocinas, sugerem que as formas moderadas e graves de EBH devam ser consideradas como desordens inflamatórias sistêmicas e não apenas doenças cutâneas (37, 38).

Em um pequeno estudo envolvendo cinco pacientes com EBH, Kawakami et al. detectaram concentrações séricas marcadamente elevadas de interleucina 6 (IL-6) em todos os pacientes (41).

Com uma amostra maior de pacientes (40 indivíduos com EBH), Annichiarico et al. tentaram estabelecer o perfil de citocinas nestes pacientes. Os resultados revelaram concentrações séricas elevadas de interleucina-1 β (IL-1 β) em pacientes com EBS e EBD, enquanto interleucina-2 (IL-2) e interleucina-6 (IL-6) estavam mais altas nos pacientes com EBD do que nos pacientes com EBS. As concentrações de fator de necrose tumoral-beta (TNF- β) e de interferon-gama (INF- γ) também se

encontravam mais elevadas nos pacientes com EBD, enquanto o TNF- α estava significativamente mais baixo. Nesse grupo, não foram detectadas diferenças nos níveis das demais citocinas pesquisadas, interleucinas 4, 5 e 10 (37).

Esposito et al. avaliaram as concentrações séricas de citocinas inflamatórias em 42 pacientes com EBH e a maioria delas (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10, TNF- β e IFN- γ) apresentava-se em concentrações séricas mais elevadas nestes pacientes do que nos controles. Apenas as concentrações de TNF- α e IL-4 não diferiram entre os grupos (38).

Ambos os estudos correlacionaram positivamente as concentrações de IL-6 com a extensão e a gravidade da EBH (37, 38).

Esse desequilíbrio entre as citocinas reflete uma resposta inflamatória sistêmica (37, 38), e esse processo pode ter impacto na fisiologia óssea, uma vez que elas podem estimular a atividade osteoclástica (reabsorção óssea) e inibir a atividade osteoblástica (formação óssea). Nenhum dos estudos anteriormente citados correlacionou esse aumento de citocinas com a DMO dos pacientes com EBH.

Neste ponto aparece uma questão que ainda não tem respostas definidas: esse processo inflamatório pode impactar a massa óssea de crianças e adolescentes com EB ao promover reabsorção óssea aumentada, ao inibir a formação óssea ou ambos os processos?

É conhecido que a homeostase óssea depende de um constante equilíbrio entre a formação óssea pelos osteoblastos e a reabsorção óssea pelos osteoclastos (42, 43).

A diferenciação, a formação e a atividade dos osteoclastos são influenciadas por várias citocinas osteoclastogênicas (IL-1, IL-6, IL-8, IL-11, IL-17, TNF- α) e anti-osteoclastogênicas (IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, IFN- γ , IFN- β) que podem estimular ou suprimir sua atividade, respectivamente. Foram detectadas também citocinas (IL-7, IL-12, IL-23, TGF- β) com ambas as propriedades (44).

Estudos demonstraram que essas citocinas podem atuar sobre a função osteoclástica diretamente ou via modulação do sistema Receptor Ativador do fator Nuclear κ B (RANK) /RANK ligante (RANKL) /Osteoprotegerina (OPG) (45-48). A ligação do RANKL ao seu receptor (RANK) promove a diferenciação e ativação dos osteoclastos (42, 49, 50). Os osteoblastos, osteócitos e fibroblastos são as principais fontes de RANKL (42, 49). Outro integrante desse processo é a OPG, um receptor

solúvel que se liga ao RANKL e impede a ligação do mesmo ao RANK, inibindo assim a osteoclastogênese. A OPG é sintetizada principalmente nos osteoblastos, linfócitos B e nas células dendríticas a partir de vários estímulos, entre eles as citocinas INF- γ , IL-3, IL-4, IL-10, IL-12 (42).

Em condições pró-inflamatórias, RANK, RANKL e OPG também podem ser sintetizadas por células do sistema imune, o que pode colaborar para o desequilíbrio entre esses receptores e ligante (43).

A diferenciação e a atividade dos osteoblastos também são afetadas e suprimidas pelo TNF- α e a IL-6 (42, 51).

Em um outro contexto clínico, níveis elevados de IL-1, IL-6 e TNF- α após a menopausa também foram associados à osteoporose (44, 49, 52, 53). Outros estudos mostram que a IL-6 pode responder por mais de 34% da variação total da DMO na primeira década após a menopausa (54). Esses dados corroboram a participação dessas interleucinas na dinâmica de formação e reabsorção óssea.

A IL-6 é uma das principais citocinas pró-inflamatórias envolvidas também na artrite reumatóide e o tratamento desses pacientes com o anticorpo anti-IL-6R (Tocilizumabe) revelou melhora da DMO nos pacientes com osteopenia prévia (55).

Em uma análise paralela sobre o impacto da IL-6 na fisiologia óssea, estudos mostram que pacientes com vírus da imunodeficiência humana (HIV) apresentam aumento de 40-60% das concentrações séricas de IL-6 e concentrações basais desta interleucina são independentemente associadas com progressão para osteopenia ou osteoporose em pacientes HIV positivos sem uso de terapia antirretroviral (43).

Dentro deste contexto, entendemos que o estudo da correlação das concentrações séricas de citocinas inflamatórias com a DMO de pacientes com EBH pode trazer ferramentas que nos permitam conhecer melhor a fisiopatologia dos distúrbios da massa óssea nesses pacientes e fornecer dados para ações mais eficazes para assegurar uma melhor aquisição de massa óssea na fase de crescimento, um melhor pico de massa óssea e diminuir o risco de fraturas ósseas ao longo da vida, que comprometeriam ainda mais a qualidade de vida dos pacientes com EBH.

1.6 AVALIAÇÃO DA MASSA ÓSSEA

Segundo as diretrizes da Sociedade Internacional de Densitometria Clínica (ISCD) e da Associação Brasileira para Avaliação Óssea e Osteometabolismo (ABRASSO) a densitometria óssea (DXA, ou absorciometria por dupla emissão de raios-X) deve ser a técnica preferida para a avaliação da densidade mineral óssea (DMO), que mostra a quantidade de mineral por área, e do conteúdo mineral ósseo (CMO), medido em gramas de mineral no sítio avaliado) (56, 57), por sua ampla disponibilidade, fácil manejo, baixo custo, boa precisão e segurança (57, 58).

A infância e a adolescência são períodos críticos de desenvolvimento e crescimento esqueléticos. Várias doenças e medicamentos podem resultar no comprometimento da aquisição ou predispor à perda de massa óssea, ou ambas (56, 57).

A DXA tem como objetivo identificar indivíduos com risco aumentado de fragilidade óssea, determinar a magnitude do comprometimento ósseo em pacientes com fragilidade óssea estabelecida, orientar e monitorar o tratamento. Apesar de haver dados que relacionam a DMO com o risco de fraturas em crianças saudáveis, pouco se sabe sobre essa relação em crianças com doenças crônicas (57).

Em homens com mais de 50 anos e mulheres após a menopausa a DXA é interpretada com base no escore T, que compara a DMO do paciente com o valor médio da DMO no pico de massa óssea de adultos jovens (entre 20 e 25 anos de idade) e do mesmo sexo que o paciente. Para crianças, adolescentes e adultos jovens (homens antes dos 50 anos e mulheres na menacme) a DMO é interpretada de acordo com o escore Z, que demonstra a diferença entre DMO do paciente e a média observada em indivíduos da mesma idade e sexo (59).

Para aquisição da DXA em crianças e adolescentes os sítios avaliados são a coluna lombar (das vértebras L1 a L4), em projeção pósterio-anterior (PA), e o corpo total sem o crânio (57). O crânio é retirado da avaliação pois corresponde a uma proporção significativa do esqueleto da criança (podendo comprometer a interpretação) e a fisiologia da formação dos ossos do crânio apresenta aspectos diferentes do restante do esqueleto. Em crianças, a DXA só é realizada a partir de 5 anos de idade, pois as bases de dados disponíveis nos equipamentos apresentam apenas os dados de referência a partir dessa idade.

A interpretação da DMO do indivíduo, de acordo com a idade, é feita a partir dos parâmetros mostrados no Quadro 1.

Quadro 1 – Parâmetros para aquisição e interpretação da DXA

	Crianças e adolescentes	Adultos jovens	Mulheres na pós-menopausa e homens com mais de 50 anos
Sítios avaliados	Coluna lombar (L1-L4) Corpo total (menos cabeça)	Coluna lombar (L1- L4) Fêmur proximal	Coluna Lombar (L1-L4) Fêmur proximal
Interpretação	Escore Z: > -2 DP: massa óssea normal ≤ -2 DP: baixa massa óssea	Escore Z: > -2 DP: massa óssea normal ≤ -2 DP: baixa massa óssea	Escore T: > -1 DP: massa óssea normal entre -1 e -2,5 DP: osteopenia ≤ -2,5 DP: osteoporose

Fonte: adaptado de Schweser KM, Crist BD. Osteoporosis: a discussion on the past 5 years. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2017 e Bishop N, Arundel P, Clark E, Dimitri P, Farr J, Jones G, et al. Fracture prediction and the definition of osteoporosis in children and adolescents: the ISCD 2013 Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):275-80.

A avaliação da composição corporal (massa gorda, massa magra e massa óssea) associada ao exame do corpo total pode ser uma ferramenta útil na avaliação de pacientes com doenças crônicas associadas à desnutrição (57), entretanto requer um programa de computador específico e com dados de composição corporal na faixa etária pediátrica, que nem sempre está disponível em serviços de saúde pública.

A densidade é uma grandeza física que correlaciona a massa e o volume de uma estrutura tridimensional, expressa em unidades de massa por volume, como por exemplo gramas/centímetros cúbico (g/cm^3). Entretanto, a densidade mineral óssea obtida por meio da DXA rebate um objeto tridimensional em um plano, o que a torna uma densitometria areal (aDMO), cuja grandeza é expressa em massa por área (g/cm^2) e não uma densidade volumétrica (vDMO) (57, 59, 60). Por conta desse aspecto a aDMO depende do tamanho do osso, uma vez que ossos maiores podem ter sua aDMO superestimada e ossos menores terem sua aDMO subestimada (57, 59, 60). Esse aspecto é de grande importância no momento de se analisar a DXA de indivíduos baixos para a idade cronológica, o que geralmente ocorre nas doenças crônicas que comprometem o crescimento (57). A Figura 11 ilustra o efeito do tamanho do objeto na sua aDMO.

No caso de indivíduos com baixa estatura, a interpretação dos resultados de DXA deve ser cuidadosa, uma vez que como os ossos são menores pode-se ter a massa óssea inadequadamente interpretada como baixa.

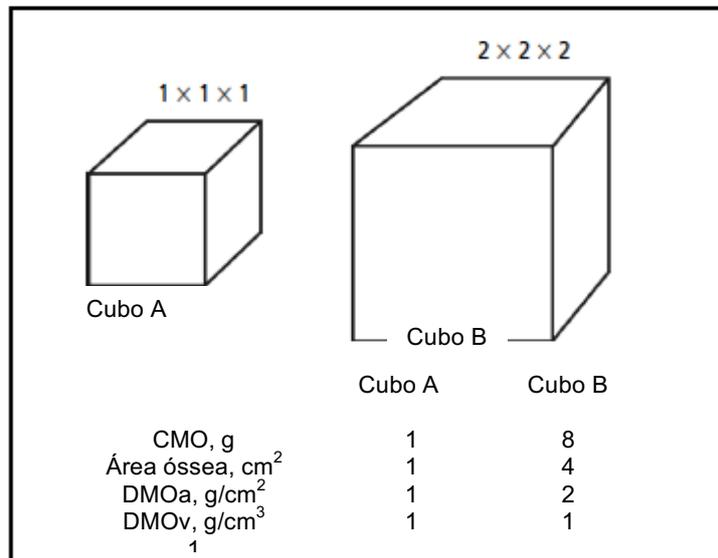


Figura 11 Efeitos do tamanho ósseo nos resultados da DXA. Ossos menores (cubo A) terão uma aDMO menor, apesar de sua vDMO ser a mesma dos ossos maiores (cubo B).

Fonte: adaptado de Henwood MJ, Binkovitz L. Update on pediatric bone health. J Am Osteopath Assoc. 2009;109(1):5-12.

Para eliminar o efeito do tamanho do osso na interpretação da DMO, no caso de pacientes altos e baixos (estatura acima do escore Z de estatura +2 DP e abaixo do escore Z de estatura -2 DP, respectivamente), a ISCD recomenda que os resultados de CMO e aDMO sejam ajustados para idade-estatura ou para o escore Z de estatura, ou seja, essas variáveis devem ser interpretadas de acordo com o tamanho do osso. Entretanto nem todos os equipamentos de DXA possuem o programa de computador para fazer a análise da DMO baseada no escore Z de estatura do paciente, limitando sua aplicabilidade.

Uma técnica frequentemente utilizada na prática clínica consiste na correção da DMO para idade-estatura. Compreende-se por idade-estatura a idade na qual a estatura do paciente encontra-se no percentil 50 para o respectivo gênero, como ilustrado na figura 12.

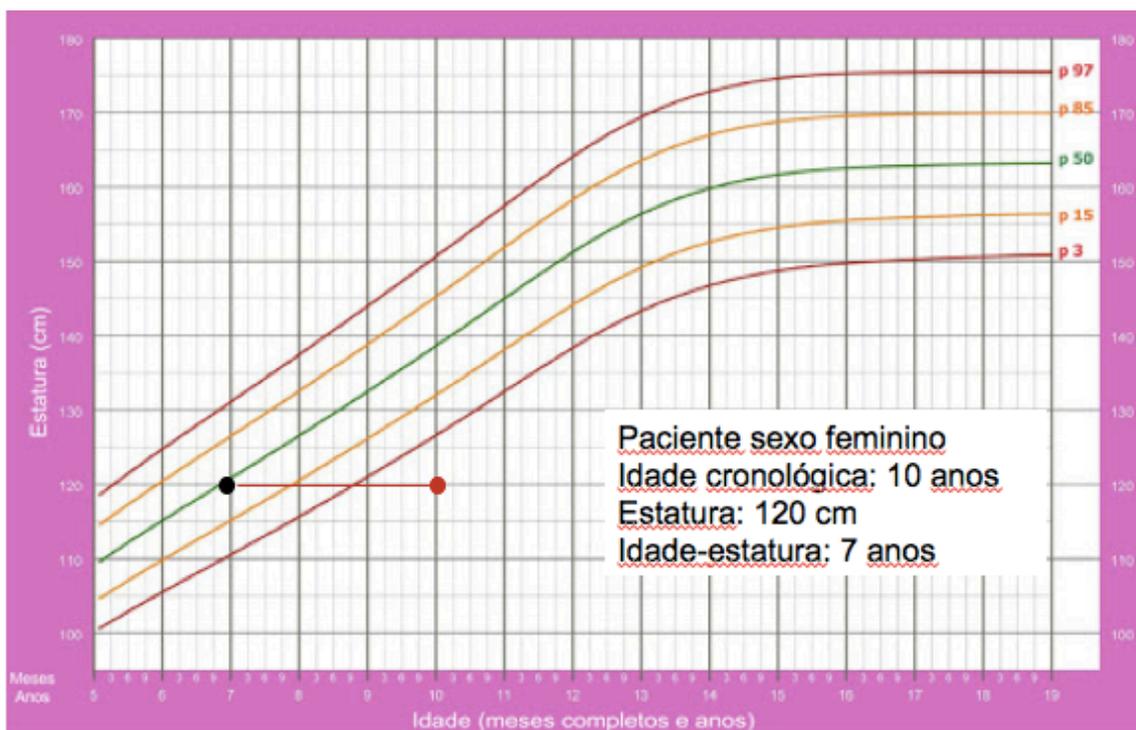


Figura 12 Plotagem de idade-estatura

Para que a aDMO seja analisada a partir da idade-estatura há programas computacionais que permitem plotar os resultados da aDMO de acordo com a idade cronológica e com a idade estatura. Entretanto, nem todos os equipamentos de densitometria contam com o programa específico para essa avaliação dupla (59).

Nesse caso uma técnica autorizada é a substituição da data de nascimento do paciente de forma que a nova data de nascimento seja compatível com a idade no dia do exame que represente a estatura do paciente no percentil 50. Por exemplo, uma menina de 10 anos de idade cronológica vai realizar uma DXA por apresentar fraturas de repetição. Sua altura é 120 cm, que está abaixo do percentil 3 na curva de estatura, representando uma baixa estatura. A estatura 120 cm corresponde ao percentil 50 de estatura de uma menina de 7 anos de idade. Desta forma, a idade-estatura dessa menina é 7 anos. Assim, substitui-se a sua data de nascimento no registro do equipamento de forma que no dia do exame ela seja reconhecida como tendo 7 anos de idade. Assim, sua DXA será interpretada de modo mais adequado ao tamanho de seus ossos, que é de 7 anos (59).

Entretanto há pontos complicadores com essa técnica quando se está diante de pacientes com baixa estatura e que já entraram em puberdade, pois apesar de se ajustar o tamanho do osso para a idade estatura, deve-se lembrar que os hormônios

da puberdade (hormônio de crescimento e hormônios sexuais) também interferem na formação óssea e impactam na forma e densidade óssea, tornando esse ajuste de menor precisão (59).

No quadro 1, anteriormente apresentado, observa-se que o diagnóstico de osteoporose em adultos é confirmado pela DXA quando o escore $T \leq -2,5$ DP (61). Entretanto, crianças, adolescentes e adultos jovens não apresentam classificação de osteoporose densitométrica, apenas de massa óssea baixa (escore $Z \leq -2$ DP). Nesses grupos etários a definição de osteoporose requer uma baixa massa óssea detectada pela DXA e a presença de uma história clinicamente significativa de fratura.

Entende-se por história clinicamente significativa de fratura a presença de pelo menos duas fraturas de ossos longos antes dos 10 anos de idade, de três fraturas entre os 10 e 19 anos de idade ou a presença de fratura vertebral de colapso, decorrente de traumas de baixo impacto e excluindo fraturas decorrentes de grandes traumas, como acidentes automobilísticos ou quedas de alturas maiores. Entretanto, uma outra regra é que a presença de uma fratura vertebral na ausência de doença local ou de traumas de alto impacto por si só já define osteoporose, independente do resultado da DXA. (62).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar variáveis clínico-antropométricas e metabólicas de pacientes com EBH acompanhados nos Setores de Endocrinologia Pediátrica, Dermatologia e Nutrição do Hospital Universitário de Brasília (HUB) e estudar a relação dessas variáveis com a DMO dos pacientes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a correlação da DMO dos pacientes com:
 - o estado nutricional (peso, altura, índice de massa corporal - IMC);
 - o perfil metabólico: hemograma, ferritina, ferro, ureia, creatinina, proteínas totais e frações, bilirrubinas, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT);
 - a bioquímica sérica osteomineral: cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), fosfatase alcalina (FA), paratormônio (PTH), e a 25-hidroxi-vitamina D (25OHD);
 - as concentrações séricas de PCR e IL-6.

3 MÉTODOS

3.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo observacional transversal envolvendo oito indivíduos com EBH acompanhados nos Setores de Endocrinologia Pediátrica, Dermatologia e Nutrição do Hospital Universitário de Brasília (HUB).

3.2 POPULAÇÃO E LOCAL DO ESTUDO

O contato e o convite aos pacientes e responsáveis para participação no estudo ocorreram durante uma reunião da Associação de Parentes, Amigos e Portadores de Epidermólise Bolhosa do Distrito Federal (APPEB-DF) e durante as consultas no ambulatório de endocrinologia pediátrica do HUB, entre os meses de maio e outubro de 2016. Nessas consultas, os pacientes e responsáveis eram informados sobre os objetivos, riscos e benefícios da pesquisa e, em seguida, os que aceitaram o convite, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE (Apêndices A e B) para a participação no estudo. No caso de participantes menores de 18 anos, o consentimento para inclusão na pesquisa foi concedido pelos pais ou responsáveis legais e os menores alfabetizados foram informados e consultados quanto à autorização para a sua participação por meio de um termo de assentimento escrito com linguagem apropriada a cada faixa etária (Apêndices C, D e E).

Utilizou-se uma amostra de conveniência, por se tratar de uma doença rara e o HUB ser o hospital de referência para o acompanhamento de pacientes com EBH no Distrito Federal e regiões próximas. Os pacientes são acompanhados por equipe multidisciplinar que consta com Dermatologistas, Nutricionistas, Odontólogos, Endocrinologistas, Assistentes Sociais, Fisioterapeutas, entre outros.

Todos os pacientes foram atendidos pela pesquisadora deste estudo (dermatologista) e por endocrinologistas pediatras do ambulatório de endocrinologia pediátrica do HUB. Nas consultas, foram submetidos a anamnese e a exame físico

completo para identificação, avaliação clínica, exclusão de doenças inflamatórias concomitantes e uso de medicamentos que pudessem interferir no estudo.

3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Somente foram incluídos na pesquisa pacientes com diagnóstico de EBH, independente do tipo; com idade superior a cinco anos (para realização da DXA), em acompanhamento no ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do HUB e que concordaram em participar do estudo, conforme Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. No caso de menores de 18 anos, apenas pacientes cujos pais ou responsáveis foram concordantes com a participação dos mesmos foram incluídos no estudo, após o devido preenchimento do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Para ser incluído no estudo, o paciente não poderia fazer uso de medicamentos anti-inflamatórios tópicos, inalatórios ou sistêmicos, esteroides ou não-esteroidais, bisfosfonatos, antifúngicos, anticonvulsivantes ou apresentar doenças inflamatórias concomitantes, como doença celíaca, lupus eritematoso, artrites, entre outras, pela interferência nos marcadores inflamatórios, na concentração de vitamina D ou na DMO.

3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Uso de medicamentos interferentes no metabolismo osteomineral e aparecimento de doenças inflamatórias sistêmicas, como os citados acima, entre o aceite de participação do estudo e a coleta de todos os exames; desistência de participação ao longo da execução do estudo; condições clínicas que pudessem interferir na aquisição ou na análise dos exames realizados.

Inicialmente havia 14 pacientes, mas duas eram menores de cinco anos, um foi diagnosticado com doença celíaca, outro faleceu durante o estudo e uma paciente

não quis realizar a coleta de sangue por motivos pessoais, restando nove pacientes no início do trabalho.

Um dos pacientes foi excluído posteriormente, uma vez que era adulto (23 anos), mas apresentava baixa estatura grave (escore Z de estatura: -6,1 DP). O ajuste para idade-estatura deste paciente o levaria a ser interpretado como apresentando 9,7 anos. Entretanto, seus ossos já sofreram o impacto dos esteroides sexuais e avaliá-lo densitometricamente como uma criança de 9,7 anos incorreria em inadequação, pelo conhecido efeito dos esteroides sexuais na formação da massa óssea. Dessa forma, a DMO resultante não refletiria a DMO real do paciente. Restaram então oito pacientes, seis do sexo feminino, cinco com EBDR e três com EBS, e seis eram menores de 18 anos.

Como descrito nos objetivos, este estudo visa à avaliação dos parâmetros clínicos, metabólicos e densitométricos do grupo de pacientes com EBH e à análise das suas possíveis correlações com a aDMO. Pelo fato da EBH apresentar manifestações sistêmicas e não apenas cutâneas nas suas formas mais graves, podem surgir alterações nesses parâmetros, o que não é esperado em indivíduos eutróficos. Além desse estudo não ter como objetivo a comparação desses parâmetros entre o grupo com EBH e um grupo não afetado, não se aplicaria avaliar tais parâmetros em um grupo controle saudável para em seguida correlacioná-los com a massa óssea, pois todos desse grupo apresentariam resultados dentro da normalidade.

As comparações e respectivas análises foram realizadas entre os subgrupos com tipos diferentes de EBH (EBS x EBDR), diferentes graus de mobilidade, o que nos permitiu avaliar o impacto das diferentes formas dessa doença nos parâmetros estudados.

3.5 AVALIAÇÃO CLÍNICA E EXAMES COMPLEMENTARES

Os dados de registro e história clínica avaliados durante as consultas foram catalogados em uma ficha específica (Apêndice F) e as informações coletadas foram inseridas em banco de dados do *Microsoft Office Excel*®.

3.5.1 Variáveis Clínicas do Estudo

Foi aplicado um questionário onde constavam as seguintes informações:

- Nome
- Nome da mãe
- Data de nascimento, idade
- Peso (em kg)
- Altura (em cm)
- IMC (em kg/m²)
- Sexo
- Estadio de Tanner
- Tipo de EBH
- Doença inflamatória concomitante
- História de fraturas
- História familiar de EBH
- Uso de vitamina D, cálcio, bisfosfonatos, anti-inflamatórios não esteroidais ou corticoides, antifúngicos, anticonvulsivantes.
- Mobilidade (avaliada por meio de uma escala categórica):
 0. Deambula sem restrições
 1. Deambula com restrições

Por meio desses dados tentou-se estabelecer fatores de risco para baixa DMO e excluir pacientes com fatores alheios à doença que pudessem influenciar nos resultados da DXA, na avaliação metabólica ou nas concentrações séricas de citocinas inflamatórias.

3.5.2 Dados Antropométricos

Para a aferição do peso dos pacientes foi utilizada balança tipo plataforma digital com precisão de 100 gramas e para a aferição da altura foi utilizado

antropômetro vertical de madeira, construído manualmente e especialmente para o ambulatório de pediatria do HUB, com precisão de 0,1 cm.

O peso e a altura foram avaliados por meio dos referenciais em percentis propostos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para maiores de 5 anos e adolescentes, segundo o sexo, altura/idade (A/I) e IMC/idade (IMC/I). As curvas de crescimento de A/I, e IMC/I da Organização Mundial de Saúde (OMS) foram escolhidas por serem utilizadas em todo o Brasil e constam no cartão da criança elaborado pelo Ministério da Saúde que é disponibilizado pelo Sistema Único de Saúde.

Com o objetivo de facilitar a análise dos referenciais antropométricos de cada paciente, foi utilizado o OMS *AnthroPlus* que é um programa informático para a aplicação da referência da OMS de 2007, para acompanhar o crescimento de crianças e adolescentes em idade escolar (5-19 anos).

3.5.3 Coleta de Sangue e Dosagens Séricas

A coleta do sangue ocorreu ao mesmo tempo que a coleta para os exames de rotina da epidermólise bolhosa hereditária (EBH) e foi realizada por profissional treinada, que costuma realizar as coletas dos exames de rotina desses pacientes no HUB. As amostras foram identificadas, centrifugadas e levadas para congelamento a -30°C no Laboratório Interdisciplinar de Biociências da Universidade de Brasília (UnB).

As dosagens das concentrações séricas da bioquímica sérica osteomineral (Ca, Mg, P, fosfatase alcalina, PTH), hemograma, proteínas totais e frações, ferro, ferritina, função renal, bilirrubinas, AST, ALT, GGT e PCR foram realizadas no laboratório de análises clínicas do HUB. Já as concentrações séricas de 25(OH)D foram obtidas no laboratório do Hospital das Forças Armadas (HFA). As dosagens de IL-6 foram realizadas pelo Laboratório Hermes Pardini (Belo Horizonte, MG), por intermédio do Laboratório Sabin, utilizando-se método de quimioluminescência e equipamento UniCel® Dxl 800 Immunoassay System - Beckman Coulter, Inc.

Os valores de referência, métodos laboratoriais utilizados e local de aferição dos exames laboratoriais incluídos como variáveis no estudo estão sumarizados no Quadro 2.

Não houve ônus aos pacientes para a realização dos exames laboratoriais. Os exames realizados no Laboratório Pardini, por meio do laboratório Sabin, foram realizados por cortesia em virtude de apoio fornecido aos pesquisadores por intermédio do Núcleo de Apoio à Pesquisa desse laboratório (Anexo A).

Quadro 2 - Sumário dos exames laboratoriais realizados no estudo

Exame	Laboratório	Método	Valor de referência
Ca	HUB	soro/NM-BAPTA automatizado	2-12 anos: 8,8-10,8 mg/dL 12-18 anos: 8,4-10,2 mg/dL Adultos: 8,6-10,0 mg/dL
P	HUB	soro/Molibdato UV automatizado	7-9 anos: M: 3,1-5,5 mg/dL H: 3,0-5,4 mg/dL 10-12 anos: M: 3,3-5,3 mg/dL H: 3,2-5,7 mg/dL 13-15 anos: M: 2,8-4,8 mg/dL H: 2,9-5,1 md/dL 16-18 anos: M: 2,5-4,8 mg/dL H: 2,7-4,9 mg/dL Adultos: 2,5 a 4,5 mg/dL
Mg	HUB	soro/ Colorimétrico- Azul de Xilidil automatizado	6-12 anos: 1,7-2,1 mg/dL 12-20 anos: 1,7-2,2 mg/dL Adultos: 1,6-2,6 mg/dL
PTH	HUB	soro/ Eletroquimioluminescência	15 a 65 pg/mL

Continua

Exame	Laboratório	Método	Valor de referência
25(OH)D	HFA	soro/ Eletroquimioluminescência	Suficiente: > 20 ng/mL Insuficiente: 12 – 20 ng/mL Deficiente: < 12 ng/mL 4-6 anos: M: 96-297 U/L H: 93-309 U/L 7-9 anos: M: 69-325 U/L H: 86-315 U/L 10-12 anos: M: 51-332 U/L H: 42-362 U/L
FA	HUB	soro/Colorimétrico – padronizado contra IFCC automatizado	13-15 anos: M: 50-162 U/L H: 74-390 U/L 16-18 anos: M: 47-119 U/L H: 52-171 U/L Adultos: 30-120 U/L
Ferro	HUB	soro/Colorimétrico- Ferrozine automatizado	33 a 193 µg/dL
Ferritina	HUB	soro/ Eletroquimioluminescência	H: 30-400 ng/mL M: 13-150 ng/mL

Continuação

Exame	Laboratório	Método	Valor de referência
Hemograma	HUB	sangue total com EDTA/ automatizado	<p>6-12 anos</p> <p>Hb: 11,5-15,5 g/dL</p> <p>HTC: 35-45%</p> <p>VCM: 77-95 fL</p> <p>HCM: 25-33 pg</p> <p>LEUC: 4000-13000/mm³</p> <p>PLT: 140-450 mil/mm³</p> <p>12-18 anos</p> <p>M: Hb: 12-16 g/dL</p> <p>HTC: 36-46%</p> <p>VCM: 78-102 fL</p> <p>HCM: 25-35 pg</p> <p>LEUC: 5000-10000/mm³</p> <p>PLT: 140-450 mil/mm³</p> <p>H: Hb: 13-16 g/dL</p> <p>HTC: 37-49%</p> <p>VCM: 78-98 fL</p> <p>HCM: 25-35 pg</p> <p>LEUC: 5000-10000/mm³</p> <p>PLT: 140-450 mil/mm³</p> <p>Adultos</p> <p>M: Hb: 11,7-15,7 g/dL</p> <p>HTC: 35-47%</p> <p>VCM: 80-98 fL</p> <p>HCM: 27-32 pg</p> <p>LEUC: 4000-11000/mm³</p> <p>PLT: 140-450 mil/mm³</p> <p>H: Hb: 13-17 g/dL</p> <p>HTC: 39-50%</p> <p>VCM: 80-98 fL</p> <p>HCM: 27-32 pg</p> <p>LEUC: 4000-11000/mm³</p> <p>PLT: 140-450 mil/mm³</p>

Continuação

Exame	Laboratório	Método	Valor de referência
Proteínas totais e frações	HUB	soro/Colorimétrico- Biureto e verde de Bromocresol automatizado	PT: >3 anos: 6,0-8,0 g/dL Adultos: 6,4-8,3 g/dL Alb: 4 dias-14 anos: 3,8-5,4 g/dL) 14-18 anos: 3,2-4,5 g/dL Adultos: 3,5-5,2 g/dL Glob: 2,0-4,1 g/dL
Ureia	HUB	soro/ UV cinético automatizado	Bebês/crianças: 11-39 mg/dL 18 - 60 anos: 13-43 mg/dL
Creatinina	HUB	soro/Colorimétrico cinético-Jaffé automatizado	5 - 6,9 anos: 0,32-0,59 mg/dL 7 - 8,9 anos: 0,40-0,60 mg/dL 9 - 10,9 anos: 0,39-0,73 mg/dL 11- 12,9 anos: 0,53-0,79 mg/dL 13- 14,9 anos: 0,57-0,87 mg/dL mulheres: 0,50-0,90 mg/dL homens: 0,70-1,20 mg/dL
Bilirrubinas	HUB	soro/Colorimétrico- Diazo reagente automatizado	BT: até 1,2 mg/dL BD: até 0,2 mg/dL

Conclusão

Exame	Laboratório	Método	Valor de referência
AST e ALT	HUB	soro/UV enzimático- IFCC otimizado automatizado	AST: até 32 U/L ALT: até 33 U/L
GGT	HUB	soro/Colorimétrico enzimático automatizado	Até 40 U/L
PCR	HUB	soro/ Imunoturbidimetria	Inferior a 0,5 mg/dL
IL-6	Hermes Pardini - MG/ Sabin	Soro/ quimioluminescência	Inferior a 6,4 pg/mL

3.5.4 Densitometria Óssea

As densitometrias ósseas (DXA) de todos os pacientes foram realizadas em período próximo à coleta de sangue, no setor de Radiologia do HUB. O aparelho utilizado foi o densitômetro Lunar DPX – Encore 2005, versão 9.15.010 (General Electric Company). Para análise da aDMO, a DXA dos seis pacientes menores de 18 anos foi avaliada a partir do escore Z da coluna lombar em PA (L1-L4) e do corpo total menos cabeça. A aDMO das duas pacientes adultas foi avaliada a partir do escore Z da coluna lombar, corpo total e fêmur proximal.

Pelo efeito do tamanho do osso na aDMO, o ajuste mais adequado foi feito para o escore Z de estatura. Desta forma, pacientes que apresentavam baixa estatura (escore Z de estatura abaixo de -2 DP) tiveram a aDMO corrigida para análise adequada da massa óssea. Como o *software* do densitômetro utilizado não permite a correção da aDMO do paciente de acordo com o escore Z de estatura, o ajuste foi feito para idade-estatura. A estratégia utilizada foi a mudança da data de nascimento, transitoriamente, só para a interpretação do exame, a qual foi em seguida corrigida para a original.

A interpretação da DMO seguiu os critérios estabelecidos pela ISCD e ABRASSO (57).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os dados foram reconhecidos como de distribuição normal e as análises estatísticas subsequentes foram realizadas por meio de testes paramétricos.

Modelos de regressão linear simples e múltiplos foram usados para avaliar a associação do escore Z da DMO da coluna lombar (L1-L4) e do corpo total corrigidos para idade-estatura com as variáveis independentes: IL- 6, PCR, plaquetas, ferritina, escore Z do IMC/I, vitamina D, cálcio corrigido, albumina e hemoglobina.

As análises foram realizadas individualmente para cada variável e ajustadas pela covariável sexo. Os resultados foram expressos pelos coeficientes de correlação bruto e parcial de Pearson e as intensidades interpretadas segundo Mukaka (2012): muito forte para um coeficiente $\geq 0,9$ (positivo ou negativo); forte entre 0,7 e 0,9 (positivo ou negativo); moderada entre 0,5 e 0,7 (positivo ou negativo); fraco entre 0,3 e 0,5 (positivo ou negativo) ou desprezível se entre 0 e 0,3 (positivo ou negativo) (63).

Os valores médios do escore Z da DMO da coluna lombar (L1-L4) e do corpo total em pacientes com ou sem restrição de mobilidade foram comparados com o emprego do teste exato de Mann Whitney.

Considerou-se significativo $p < 0,05$ e o programa estatístico SAS 9.4 foi utilizado na análise dos dados. Para a análise dos dados contou-se com o auxílio de profissional estatístico.

3.7 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da UnB, sob o parecer número 1.623.464 (Anexo B), com a concordância da Gerência de Ensino e Pesquisa (GEP) e dos diretores e chefes dos Setores de Pediatria e Endocrinologia Pediátrica do HUB e com ciência da equipe do Setor de Dermatologia responsável pelo acompanhamento desses pacientes. Também foi avisada a diretoria da APPEB-DF.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO DO ESTUDO

Entre os pacientes que participaram do estudo há um maior percentual de indivíduos do sexo feminino (seis), cinco pacientes com EBDR e três pacientes com EBS, com uma média de idade de $16,4 \pm 8,3$ anos. A caracterização dos casos estudados, por sexo, idade e tipo de EB esta demonstrada na tabela 2.

Tabela 2 – Caracterização dos casos segundo sexo, identificação, idade e tipo de epidermólise bolhosa dos pacientes com EBH atendidos no ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do Hospital Universitário de Brasília durante o ano de 2016, Brasília, DF

Sexo	Identificação	Idade (anos)	Tipo de EBH
F	F1	13,2	EBS
F	F2	33,4	EBDR
F	F3	12,3	EBDR
F	F4	16,4	EBDR
F	F5	23,3	EBS
F	F6	6,9	EBDR
M	M1	12,8	EBDR
M	M2	13,0	EBS
Média \pm DP		16,4 \pm 8,3	

F= feminino, M= masculino
DP= Desvio-padrão

Todos os pacientes negaram história prévia de fratura e dois pacientes relataram outros casos de EBH na família.

Os pacientes recebiam suplementos nutricionais com vitamina D, mas negaram o uso de bisfosfonatos, antifúngicos, anticonvulsivantes, medicamentos anti-inflamatórios tópicos, inalatórios ou sistêmicos, esteroides ou não-esteroidais. Também negaram doenças inflamatórias concomitantes. Quatro pacientes se locomoviam sem restrições, mantendo atividades normais; três possuíam dificuldade

de locomoção e apresentavam pouca atividade e um paciente fazia uso ocasional de cadeira de rodas (Tabela 3).

Quanto aos parâmetros antropométricos, três pacientes com EBDR apresentaram baixa estatura para a idade (escore $Z < -2$ DP) e três pacientes com EBDR possuíam um IMC de magreza (escore $Z < -2$ DP) (Tabela 3).

Em relação à puberdade, dois pacientes eram pré-púberes, uma paciente (EBDR) apresentava progressão lenta do desenvolvimento puberal, três encontravam-se em puberdade normal e duas já eram adultas (Tabela 3).

Tabela 3 – Dados antropométricos e clínicos dos pacientes do estudo

Paciente	Escore Z Altura/Idade	Escore Z IMC/Idade	Estadio de Tanner	Uso de Medicamento	Parente com EBH	Mobilidade
F1	-0,02	0,6	M4P4	Não	Não	0
F2	-0,5	-1,4	M5P5	Não	Sim: 3 Tios e 1 prima*	1
F3	-3,2	-3,4	M3P1	Não	Não	0
F4	-2,0	-5,5	M3P2	Não	Não	1
F5	-0,6	-0,5	M5P5	Não	Não	0
F6	-2,5	-2,2	M1P1	Não	Não	1
M1	-6,1	-0,8	G1P1	Não	Não	1
M2	1,2	-1,6	G2P3	Não	Sim: Pai, irmão e irmã**	0
MÉDIA ± DP	-1,7 ± 2,3	-1,8 ± 1,9				

DP= desvio-padrão

* EBDR: todos faleceram antes do primeiro ano de vida

** Pai e irmão com EBS, irmã faleceu aos 5 meses (EB e tetralogia de Fallot)

F= feminino, M= masculino

Mobilidade

0 – deambula sem restrições

1 – deambula com restrições

4.2 AVALIAÇÃO LABORATORIAL

4.2.1 Bioquímica e Hemograma

Enquanto os pacientes com EBS não apresentaram anemia, todos os pacientes com EBDR apresentaram anemia hipocrômica e microcítica, com baixas concentrações de ferro em quatro desses pacientes e ferritina baixa em três. Duas pacientes, uma com EBS e uma com EBDR, apresentaram leucocitose; enquanto trombocitose leve foi demonstrada em dois pacientes com EBDR. Hipoalbuminemia foi identificada em seis pacientes, com os menores valores presentes nos pacientes com EBDR, e concentrações aumentadas de globulina foram detectadas em cinco pacientes com EBDR. Já as concentrações séricas de ureia, creatinina, ALT, AST, GGT e bilirrubinas não estavam elevadas em nenhum paciente deste estudo (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados de bioquímica e hemograma dos indivíduos estudados

Exame	F1	F2	F3	F4	F5	F6	M1	M2	MÉDIA	DP
Hb (g/dL)	14,5	9,3	10,6	6,5	11,9	5,4	7,6	13,3	9,9	± 3,3
HTC (%)	43,0	28,8	32,0	22,4	36,1	21,4	27,0	38,0	31,1	± 7,6
VCM (fl)	84,0	68,0	69,0	51,0	65,0	57,0	68,0	81,0	67,9	± 11,0
HCM (picog)	28,0	22,0	22,0	15,0	21,0	14,0	19,0	28,4	21,2	± 5,3
Leuc (/mm ³)	8290	10980	5300	12320	13340	8150	11630	6430	9555	± 2922
PLT (mil/mm ³)	247	418	240	466	300	432	571	223	362,1	±127,5
Ur (mg/dL)	15	25	27	26	17	08	21	23	20	± 7
Cr (mg/dL)	0,3	0,5	0,4	0,4	0,5	0,2	0,3	0,5	0,4	± 0,1
Alb (g/dL)	3,1	2,5	4,0	2,2	3,2	2,1	2,2	4,1	2,9	± 0,8
Glob (g/dL)	1,8	6,6	5,5	6,4	2,3	5,3	7,1	3,2	4,8	± 2,1
GGT (U/L)	3	26	10	9	7	6	9	10	10	± 7
AST (U/L)	10	17	22	9	8	18	15	23	15	± 6
ALT (U/L)	3	7	3	2	3	4	3	4	4	± 2
BT (mg/dL)	0,10	0,10	0,09	0,08	0,04	0,04	0,17	0,06	0,09	± 0,04
BD (mg/dL)	0,05	0,01	0,03	0,02	0,01	0,01	0,02	0,12	0,03	± 0,04
Fe (µg/dL)	92	23	40	18	43	18	16	107	45	± 36

Conclusão

Exame	F1	F2	F3	F4	F5	F6	M1	M2	MÉDIA	DP
Ferritina (ng/mL)	24,66	40,13	13,92	9,78	23,99	10,07	18,10	53,76	24,30	± 15,48

Hb: hemoglobina, HTC: hematócrito, VCM: volume corpuscular médio, HCM: hemoglobina corpuscular média, Leuc: leucócitos, PLT: plaquetas, Ur: ureia, Cr: creatinina, Alb: albumina, Glob: globulina, GGT: gamaglutamiltransferase, AST: aspartato aminotransferase, ALT: alanina aminotransferase, BT: bilirrubina total, BD: bilirrubina direta, Fe: ferro.

4.2.2 Bioquímica Osteomineral

Como não estava disponível a realização da dosagem do cálcio iônico, foi dosado o cálcio (Ca) sérico total e seu valor foi corrigido por meio da seguinte fórmula, que leva em consideração os valores de albumina:

$$\text{Ca corrigido: Ca observado} + [(4 - \text{albumina}) \times 0,8]$$

Os valores do cálcio corrigido demonstraram duas pacientes com EBS com hipocalcemia. Uma paciente com EBDR apresentou hipercalcemia após correção da hipoalbuminemia. Entretanto, a paciente não apresenta clínica ou fatores de risco para hipercalcemia, e esse valor não foi valorizado, devendo ser subsequente a erro analítico ou pré-analítico, de causa não reconhecida.

Observou-se PTH com concentrações dentro da normalidade em 7 pacientes (média $27 \pm 9,8$ pg/mL). Apenas 1 paciente com EBDR apresentou baixas concentrações desse hormônio (9,44 pg/mL), mas sem alterações nas concentrações séricas de Ca e P (que devem estar presentes nas situações de hipoparatiroidismo). Desta forma, esse valor baixo deve ter decorrido de erro pré-analítico da amostra do paciente, sendo a causa mais provável demora para processamento da amostra e consumo do hormônio.

Todos os pacientes apresentaram concentrações séricas normais de P (média $3,8 \pm 0,8$ mg/dL), Mg (média $2,1 \pm 0,1$ mg/dL) e FA (média 94 ± 44 U/L). No entanto, a dosagem da 25(OH)D, realizada no HFA, demonstrou insuficiência ($12 - 20$ ng/mL) nos cinco pacientes com EBDR e suficiência nos três pacientes com EBS. Todos esses dados podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 – Bioquímica osteomineral

Paciente	Ca cor (mg/dL)	P (mg/dL)	Mg (mg/dL)	FA (U/L)	PTH (pg/mL)	25OHD (ng/mL)
F1	7,42	2,8	2,1	85	34,55	23,01
F2	11,70	3,8	2,1	69	41,26	16,13
F3	9,40	4,3	2,0	130	23,07	19,30
F4	8,84	3,7	2,1	62	22,34	12,38
F5	8,04	2,7	2,1	48	33,53	35,46
F6	8,82	3,6	2,2	88	29,20	16,84
M1	8,94	4,8	2,2	85	9,44	14,45
M2	9,42	4,7	2,1	185	22,36	34,75
MÉDIA ± DP	9 ± 1,25	3,8 ± 0,8	2,1 ± 0,06	94 ± 44	27 ± 9,8	21,54 ± 9

F: feminino, M: masculino, Ca cor: cálcio corrigido, P: fósforo, Mg: Magnésio, FA: Fosfatase alcalina, PTH: Paratormônio, 25OHD: 25-hidróxi-vitamina D.

4.2.3 Marcadores Inflamatórios

A avaliação da inflamação sistêmica e sua influência sobre o metabolismo ósseo dos pacientes com EBH foi realizada por meio das concentrações séricas da PCR, um marcador inflamatório inespecífico, e pela dosagem da IL-6, uma citocina pró-inflamatória também conhecida por sua atividade osteoclastogênica.

A dosagem da PCR detectou valores elevados desse marcador inflamatório, com uma média de $3,6 \pm 3,1$ mg/dL. Todos os pacientes com EBDR apresentaram valores maiores que 4,2 mg/dL, com uma média de $5,8 \pm 1,5$ mg/dL entre eles, enquanto os pacientes com EBS apresentaram valores dentro da normalidade (Tabela 6).

Concentrações séricas elevadas de IL-6 foram identificadas em seis pacientes, cinco com EBDR e uma com EBS. A média dos valores de IL-6 foi de $25,5$ pg/mL \pm 24 (para valores de referência esperados inferiores a 6,4 pg/mL) (Tabela 6).

Observou-se também que a média da IL-6 dos pacientes com EBDR foi significativamente maior ($38,9$ pg/mL) que a dos pacientes com EBS ($3,15$ pg/mL), com $p = 0,014$.

Tabela 6 – Marcadores inflamatórios (PCR e IL-6)

Pacientes	PCR (mg/dL)	IL-6 (pg/mL)
F1	0,03	1,1
F2	6,80	58,9
F3	4,30	10,0
F4	4,22	44,1
F5	0,15	7,1
F6	6,07	28,2
M1	7,50	53,3
M2	0,03	1,2
MÉDIA ± DP	3,6 ± 3,2	25,5 ± 24

PCR= proteína C reativa, IL-6= interleucina 6.

DP= Desvio-padrão

F= Feminino, M= Masculino

4.3 DENSITOMETRIA ÓSSEA

As DXAs dos seis pacientes menores de 18 anos foram avaliadas a partir do escore Z da coluna lombar em PA (L1-L4) e do corpo total menos cabeça. A aDMO das pacientes adultas foi avaliada a partir do escore Z da coluna lombar, corpo total e fêmur proximal. Para os três pacientes com EBDR que apresentavam baixa estatura para a idade foi realizada a correção da DMO para idade-estatura.

Três pacientes do sexo feminino com EBDR apresentaram escore Z de L1-L4 corrigido para idade-estatura ≤ -2 DP, refletindo baixa massa óssea nessa região. Entretanto, o escore Z do corpo total corrigido para idade-estatura não revelou baixa massa óssea em nenhum desses pacientes. O escore Z do fêmur proximal, avaliado nos pacientes maiores de 18 anos, apresentou valores dentro da normalidade. Nenhum resultado densitométrico revelou indícios de fratura vertebral (diferença na aDMO entre uma vértebra e sua adjacente maior que 1 DP) e nenhum paciente relatou dor lombar (Tabela 7).

Tabela 7 - Densidade mineral óssea avaliada pelo Escore Z

PACIENTES	Idade (anos)	Escore Z Altura	Escore Z (L1-L4) corrigido (idade- estatura)	Escore Z Corpo Total corrigido (idade-estatura)	Escore Z (Fêmur proximal)
F1	13,2	-0,02	0,0	-0,4	-
F2	33,4	-0,5	-1,3	-0,7	-0,8
F3	12,3	-3,2	-2,4	-0,8	-
F4	16,4	-2,0	-2,5	-1,1	-
F5	23,3	-0,6	0,5	-	0,4
F6	6,9	-2,5	-2,1	-1,2	-
M1	12,8	-6,1	-0,6	2,3	-
M2	13,0	1,2	0,5	0,6	-
Média ± DP	16,4 ± 8,3	-1,7 ± 2,3	-1,0 ± 1,3	-0,2 ± 1,2	-0,2 ± 0,8

DP= desvio-padrão

Escore Z de F5 não foi avaliado para corpo total

4.4 CORRELAÇÕES ESTATÍSTICAS ENTRE OS DADOS ESTUDADOS

As correlações do escore Z da aDMO da coluna lombar e do escore Z da aDMO do corpo total corrigidos para idade-estatura com as variáveis independentes: IL-6, PCR, plaquetas, ferritina, escore Z do IMC/I, vitamina D, cálcio corrigido, albumina e hemoglobina foram avaliadas e as análises foram realizadas individualmente para cada variável e ajustadas pela covariável sexo.

Os valores de IL-6 e plaquetas, após o ajuste da variável sexo, apresentaram uma correlação negativa de intensidade moderada com o escore Z da aDMO da coluna lombar corrigido para idade-estatura. Já os níveis de PCR demonstraram uma forte correlação negativa com o escore Z corrigido para idade-estatura da DMO dessa região. No entanto, nenhuma dessas variáveis mostrou correlação estatisticamente significativa com o escore Z da aDMO da coluna lombar.

Após o ajuste da variável sexo, o cálcio corrigido, apresentou uma correlação negativa de intensidade baixa e sem significância estatística com o escore Z da aDMO de L1-L4 corrigido para idade-estatura. Por outro lado, as variáveis albumina e ferritina apresentaram uma correlação positiva de intensidade baixa e moderada,

respectivamente, mas também sem significância estatística com o escore Z da aDMO de L1-L4 corrigido para idade-estatura.

Escore Z do IMC/I, 25(OH)D e hemoglobina apresentaram correlações positivas, de intensidade forte e estatisticamente significativas com o escore Z da aDMO de L1-L4 corrigido para idade-estatura. Todas as correlações citadas acima podem ser observadas na tabela 8.

Tabela 8 – Correlações entre as variáveis estudadas e o escore Z da aDMO de L1-L4 corrigido para idade-estatura

Variáveis	Coefficiente de Correlação de Pearson bruto	p-valor	Coefficiente de Correlação de Pearson Parcial*	p-valor
Escore Z da aDMO (L1-L4) corrigido idade-estatura				
Interleucina 6	-0,45629	0,2558	-0,53730	0,2136
PCR	-0,64933	0,0814	-0,74356	0,0554
Plaquetas	-0,36536	0,3735	-0,50527	0,2474
Ferritina	0,64877	0,0818	0,55409	0,1968
Escore Z – IMC/I	0,78992	0,0197	0,79749	0,0317
25(OH)D	0,79589	0,0181	0,80474	0,0290
Cálcio Corrigido	-0,30165	0,4678	-0,36706	0,4180
Albumina	0,37539	0,3595	0,33864	0,4575
Hemoglobina	0,72827	0,0405	0,76887	0,0434

* - Ajustado por sexo

Quando estas variáveis foram correlacionadas com o escore Z da aDMO do corpo total corrigido para idade-estatura, nenhuma correlação estatisticamente significativa foi encontrada, como pode ser observado na tabela 9.

Após o ajuste da variável sexo, o cálcio corrigido e a hemoglobina apresentaram uma correlação negativa de intensidade insignificante e sem significância estatística com o escore Z da aDMO do corpo total corrigido para idade-estatura. Já as variáveis ferritina e albumina apresentaram uma correlação negativa de intensidade fraca e sem significância estatística com o escore Z da aDMO do corpo total corrigido para idade-estatura. Enquanto a variável 25(OH)D apresentou uma correlação negativa de intensidade moderada e sem significância estatística com o escore Z da aDMO do corpo total corrigido para idade-estatura. Por outro lado, interleucina 6, PCR, plaquetas e escore Z do IMC/I apresentaram uma correlação

positiva, mas de intensidade baixa e também sem significância estatística com o escore Z da aDMO do corpo total corrigido para idade-estatura.

Tabela 9 – Correlações entre as variáveis estudadas e o escore Z da aDMO de corpo total corrigido para idade-estatura

Variáveis	Coefficiente de Correlação de Pearson bruto	p-valor	Coefficiente de Correlação de Pearson Parcial*	p-valor
Escore Z – aDMO (corpo total) corrigido para idade-estatura				
Interleucina 6	0,15133	0,7460	0,38793	0,4473
PCR	0,10964	0,8150	0,41405	0,4144
Plaquetas	0,31149	0,4965	0,43849	0,3844
Ferritina	0,26828	0,5608	-0,39558	0,4376
Vitamina D	0,17290	0,7109	-0,59965	0,2083
Cálcio Corrigido	-0,08193	0,8614	-0,14101	0,7899
Albumina	0,02188	0,9629	-0,37949	0,4581
Hemoglobina	0,13756	0,7687	-0,03319	0,9502
Escore Z – IMC/I	0,45378	0,3064	0,44969	0,3709

* - Ajustado por sexo

Os valores médios de escore Z da aDMO de L1-L4 e do corpo total corrigidos para idade-estatura não diferiram significativamente entre os níveis de mobilidade ($p=0,1714$ e $p=0,6286$, respectivamente) (Quadro 3).

Quadro 3 – Valores médios do escore Z da aDMO de L1-L4 e do corpo total corrigidos para idade-estatura, segundo a presença ou não de restrição de mobilidade

	Mobilidade*		p-valor [#]
	Sem Restrições	Com Restrições	
Escore Z – aDMO (L1-L4) corrigido para idade-estatura	-0,35 ± 1,39	-1,63 ± 0,85	0,1714
Escore Z – aDMO (corpo total) corrigido para idade-estatura	-0,20 ± 0,72	-0,18 ± 1,66	0,6286

* Valores expressos em média ± desvio padrão

p – valor calculado pelo teste exato de Mann Whitney

No entanto, foi observado que a paciente F3 apresentava-se como um ponto fora da curva (*outlier*) em relação ao escore Z da aDMO do grupo com mobilidade preservada, pois apresenta uma aDMO de -2,4, díspare em relação aos valores

encontrados no grupo com mobilidade preservada. Quando se avaliou o grupo total sem a paciente F3, observou-se uma forte correlação positiva entre escore Z de aDMO e mobilidade ($r = 0,86$ e $p = 0,013$).

Com relação à atividade inflamatória, foi encontrada correlação fortemente positiva e significativa entre as concentrações séricas de IL-6 e PCR ($r = 0,86$, $p = 0,005$), confirmando sua sincronia na inflamação sistêmica.

5 DISCUSSÃO

Este estudo visou à avaliação da influência dos parâmetros clínicos e metabólicos sobre a densidade mineral óssea dos pacientes com EBH. Apesar de outros estudos abordarem o impacto dessas variáveis na massa óssea desses pacientes, nenhum estudo prévio relacionou as concentrações séricas de IL-6 com a DMO, apenas demonstraram que as concentrações séricas desta interleucina encontravam-se aumentadas nas formas generalizadas da doença (37, 38, 41).

O presente estudo consistiu em uma pesquisa institucional, onde apenas indivíduos acompanhados no HUB foram selecionados. Essa abordagem possui desvantagens, por restringir o número de indivíduos que participariam do estudo. Entretanto, por se tratar de uma doença rara e ser o HUB o hospital de referência para o atendimento de pacientes com EBH no Distrito Federal e cidades de Estados próximos, como Goiás, Minas Gerais e Bahia, há maior probabilidade de acesso dos pacientes de outros centros, os quais se comunicam e buscam atendimento por meio de grupos de apoio como a APPEB-DF.

A amostra estudada apresentou uma população com características heterogêneas, composta de crianças, adolescentes e adultos de ambos os sexos, com idades entre 6,9 e 33,4 anos com EBH de dois tipos, EBS e EBDR.

Como os indivíduos estudados representam uma amostra desconhecida dos casos que realmente ocorrem na população, a utilização dos testes estatísticos a eles referentes se torna limitada quanto à representatividade e extrapolação à população externa.

Este é um estudo transversal, que apresenta pontualmente o momento da avaliação de cada paciente, mas não suficiente para representar uma evolução do estado de saúde do indivíduo. Portanto, a causalidade não pode ser deduzida, uma vez que está ausente a temporalidade necessária para essa associação, um dos critérios essenciais para estabelecimento de uma relação de causa-efeito (64).

A pesquisa envolveu sempre os mesmos profissionais (endocrinologistas pediátricos), além da pesquisadora, para a coleta de dados e a avaliação clínica dos participantes, garantindo homogeneidade e minimizando vieses de aferição.

Quanto à mensuração dos exames laboratoriais, podemos inferir que houve uniformidade na sua execução, uma vez as dosagens dos mesmos metabólitos foram

realizadas no mesmo laboratório, e as DXAs de todos os pacientes foram realizadas no mesmo serviço, critério essencial à sua interpretação em conjunto.

Entre as dosagens séricas realizadas neste estudo cabe ressaltar as peculiaridades relacionadas à avaliação das concentrações séricas de 25(OH)D. Apesar de a 1,25(OH)₂D ser o metabólito ativo, a análise da reserva de vitamina D de um indivíduo é realizada pela dosagem sérica da 25(OH)D (35, 65). Os principais motivos para não utilizar o calcitriol nessa avaliação são sua meia-vida curta (4 a 6 horas, enquanto a 25(OH)D tem meia-vida de 2 a 3 semanas) e, em situações de deficiência de vitamina D, esse metabólito poder estar em níveis normais, pois a hipocalcemia consequente à hipovitaminose D estimula a síntese de PTH, o qual estimula a expressão da 1- α -hidroxilase, consumindo e convertendo a 25(OH)D em 1,25(OH)₂D (35).

Há uma ampla variabilidade interensaios na dosagem da 25(OH)D (35), o que torna fundamental a escolha da sua realização em apenas um laboratório, sempre pelo mesmo método. Os métodos que não empregam detecção imunológica direta são a cromatografia líquida de alto desempenho acoplada à espectrofotometria de massa, que podem distinguir níveis individuais de 25(OH)D₂ e 25(OH)D₃ e são considerados padrão-ouro de avaliação (35, 66). A cromatografia líquida de alta pressão pode ser um método substituto, porém, tais métodos laboratoriais são dispendiosos, pouco utilizados na prática clínica (35, 36, 67) e não se encontraram disponíveis para este estudo. No presente trabalho o método utilizado foi a eletroquimioluminescência, que é um método automatizado e menos oneroso, porém apresenta menor confiabilidade e acurácia e maior variabilidade nos seus resultados (35).

Neste estudo, a mensuração dos níveis séricos de 25(OH)D ocorreu em apenas um laboratório, o que minimizou viés de aferição decorrente da variabilidade interlaboratorial da dosagem de 25(OH)D, observada em alguns estudos (68, 69).

Não há um consenso quanto ao valor de corte para a definição de “suficiência em vitamina D”. A concentração esperada de 25(OH)D seria aquela necessária para manter o PTH em valores adequados e não permitir o surgimento de alterações clínicas e metabólicas relacionadas à hipovitaminose D, como hipocalcemia e rarefação óssea. Alguns estudos sugerem que o platô dos valores de PTH e de absorção de cálcio são atingidos com valores de 25(OH)D acima de 20 ng/mL (70).

Segundo essa interpretação, os pontos de corte que melhor representam o estado de suficiência em 25(OH)D de um indivíduo são: suficiência: > 20 ng/mL; insuficiência: 12 – 20 ng/mL; deficiência: 5 – 12 ng/mL; deficiência grave: < 5 ng/mL.

Entretanto, outros autores registram que o ponto de corte do equilíbrio do platô do PTH e de absorção de cálcio ocorreria com níveis da 25(OH) D acima de 30 ng/mL. Dessa maneira, concentrações séricas abaixo de 20 ng/mL seriam classificadas como deficiência, entre 20 e 29 ng/mL como insuficiência e entre 30 e 100 ng/mL como suficiência. Portanto, concentrações séricas de 25(OH)D abaixo de 30 ng/mL são consideradas por muitos como hipovitaminose D (71-74). Esses valores foram reconhecidos pela diretriz da *Endocrine Society* (Sociedade de Endocrinologia dos Estados Unidos) (72), porém divergem daqueles aceitos (20 ng/mL) pelo *Institute of Medicine* (IOM)(75).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM), as concentrações séricas de 25(OH)D acima de 30 ng/mL são desejáveis e devem ser as metas para os indivíduos de maior risco, pois, acima desses valores, os benefícios da vitamina D se tornam mais evidentes, especialmente no que se refere a doenças osteometabólicas e redução de quedas (36).

Por outro lado, a *Pediatric Endocrine Society* segue as orientações do Consenso global sobre prevenção e manejo de raquitismo nutricional (*Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets*) de 2016 (76), que contou com a participação de 33 especialistas em endocrinologia pediátrica, pediatria, nutrição, epidemiologia, saúde pública e economia da saúde e possui recomendação semelhante àquela do IOM quanto aos valores de referência da 25(OH)D: suficiência: > 20 ng/mL; insuficiência: 12 – 20 ng/mL; deficiência: < 12 ng/mL. Esta seria a classificação mais recomendada para a população pediátrica e estes foram os valores adotados como referência neste estudo, uma vez que o mesmo é composto por crianças e adolescentes em sua maioria.

A possibilidade de discussão desta pesquisa se torna limitada por não haver uma literatura ampla a respeito do envolvimento ósseo da EBH e contarmos com uma amostra pequena dessa população, o que não nos permite responder nenhuma questão com os resultados apresentados, mas sim, comparar os resultados obtidos com os da literatura, a fim de colaborar com o conhecimento a respeito dos fatores que podem influenciar a massa óssea dos indivíduos com EBH.

5.1 ASPECTOS CLÍNICOS E METABÓLICOS

5.1.1 Achados Antropométricos

No presente estudo, a média do escore Z da A/I foi de $-1,6 \pm 2,26$, sendo que dos cinco pacientes com EBDR, três apresentaram baixa estatura. Quanto ao estado nutricional, a média do escore Z do IMC/I foi de $-1,84 \pm 1,88$, e três pacientes com EBDR possuíam um baixo IMC (escore $Z < -2$ DP).

Estudos prévios demonstraram que os indivíduos com EBH tendem a apresentar baixo peso e baixa estatura para a idade, principalmente nas formas mais graves da doença (26-28, 57).

Em 2016, Rodari et al. avaliaram 20 crianças com EB e encontraram uma média de escore Z da A/I de $-1,23 \pm 2,15$; com baixa estatura (< -2 DP) observada em 25% dos indivíduos. Quanto ao escore Z do IMC/I, encontraram média de $-2,03 \pm 2,98$ (14).

Em um estudo longitudinal envolvendo 17 pacientes com formas generalizadas de EB, Fu et al. observaram que apesar deles ganharem peso e estatura durante o seguimento, não houve desenvolvimento significativo na média dos escores Z da A/I, P/I e IMC/I. Os mesmos autores atribuíram esse crescimento linear diminuído, dentre outros fatores, ao estado de má nutrição crônica observado nesses pacientes (28). Outros autores confirmam esse retardo no crescimento na maioria das crianças com formas graves de EB (77) .

Em concordância com o estudo de Sousa et al. (78), o presente estudo encontrou valores normais de escore Z de A/I e IMC/I nos pacientes com EBS, o que poderia ser explicado pelo fato deste tipo de EBH geralmente apresentar formas menos graves da doença e menor acometimento sistêmico.

5.1.2 Desenvolvimento Puberal

Apesar do atraso puberal ser uma complicação frequentemente observada

entre adolescentes com formas graves de EBH (19, 26), a maioria dos pacientes que participaram deste estudo apresentou desenvolvimento puberal normal. Dois pacientes eram pré-púberes, uma paciente (EBDR) apresentava progressão lenta do desenvolvimento puberal e os demais encontravam-se em puberdade normal ou já eram adultos que tiveram puberdade normal.

Os mecanismos precisos do atraso puberal nos indivíduos com EBH ainda não foram esclarecidos (19). Embora o sistema hormonal tenha sido pouco avaliado em pacientes com EB até o momento, o comprometimento nutricional provavelmente desempenha um dos principais papéis na puberdade tardia nesses pacientes. A desnutrição é uma causa bem conhecida de atraso puberal e isso pode afetar todo o sistema hormonal (insulina, hormônios tireoidianos, cortisol e GH, e o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal) (77).

O estado inflamatório crônico também poderia contribuir para o retardo no desenvolvimento puberal dos pacientes com EBH. Estudos prévios demonstraram concentrações séricas elevadas de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF- α , entre outras) nesses pacientes (37, 38), enquanto outros estudos demonstraram que IL-6 e IL-1 podem inibir a esteroidogênese ovariana e testicular, além de inibir a secreção de GnRH por ação direta no hipotálamo (79).

Não foram encontrados na literatura, dados que correlacionem o grau de desnutrição ou de inflamação dos indivíduos com EBH e seu estágio de desenvolvimento puberal. A escassez de análises quantitativas talvez explique os resultados divergentes entre nossa amostra e as de outros estudos. Também deve ser levada em consideração a diversidade dos subtipos de EB que compõem cada amostra, onde amostras com maior número de indivíduos com manifestações mais brandas da doença tenderiam a apresentar desenvolvimento puberal dentro da normalidade.

5.1.3 Mobilidade

Quanto à mobilidade, a amostra estudada era composta por quatro pacientes que se locomoviam sem restrições, mantendo atividades normais; três que possuíam dificuldade de locomoção e apresentavam pouca atividade e um paciente que fazia

uso ocasional de cadeira de rodas, ou seja, metade deles deambulava com restrições.

Estudos anteriores demonstraram a mobilidade dos pacientes com EBH por meio de diferentes formas de classificação, outros não expuseram os dados, o que dificulta a comparação entre as amostras.

Entre os indivíduos com EBH observados por Bruckner et al., assim como na nossa amostra, nenhum paciente era completamente imóvel; mas 25% deambulavam sem restrições, 42% possuíam dificuldades de locomoção e tinham pouca atividade e 33% utilizavam cadeira de rodas ocasionalmente (27). Na amostra de Rodari et al., também não haviam pacientes imóveis; 40% eram ativos e não tinham restrições para deambular, 35% eram pouco ativos, com restrições e 25% utilizavam cadeira de rodas ocasionalmente (14). Ambos possuíam pacientes com EBD e com EBS em suas amostras.

A mobilidade desses pacientes é frequentemente limitada por dor intensa por ulcerações e bolhas persistentes, juntamente com contraturas que se desenvolvem em pacientes com EBDR (14). Essa mobilidade restrita mostrou prever baixa massa óssea em indivíduos com EBH e, conseqüentemente, um maior risco de fraturas (26).

Não há apenas efeitos físicos dessa complicação, o indivíduo incapaz de participar das atividades diárias pode desenvolver isolamento social e problemas psicológicos (80).

5.1.4 Alterações Laboratoriais

Devido ao estado de desnutrição e inflamação crônicas, infecções secundárias, entre outros fatores, os pacientes com EBH com formas mais graves costumam apresentar alterações laboratoriais que refletem o seu comprometimento sistêmico.

No presente estudo, hipoalbuminemia foi identificada em seis dos oito pacientes, com uma concentração média de $2,9 \pm 0,8$ g/dL e os menores valores foram observados nos pacientes com EBDR. Esse achado também foi observado em estudos prévios, como o de Reyes et al, que avaliaram sete crianças com formas generalizadas de EBH e notaram que 43% delas apresentaram baixas concentrações séricas de albumina (média de 3,1 g/dL) (25). Por meio de um estudo com uma amostra maior (24 indivíduos com EBH), Bruckner et al também observaram

hipoalbuminemia (média de $3,2 \pm 1,0$ g/dL) nesses pacientes (27).

Acredita-se que a hipoalbuminemia seja um indicador de desnutrição nos indivíduos com EB (27), uma vez que, principalmente nas formas generalizadas de EBH, há uma alta demanda metabólica imposta pelas feridas crônicas em cicatrização associada à dificuldade de ingestão de alimentos decorrente de lesões orais e esofágicas, além da má absorção intestinal (21, 28). Outro fator a ser considerado é o estado inflamatório sistêmico que pode se desenvolver nos indivíduos com EBH, pois a hipoalbuminemia pode refletir reação de fase aguda mediada por citocinas durante eventos inflamatórios. Não encontramos alterações clínicas ou laboratoriais sugestivas de comprometimento da função hepática nos pacientes avaliados no presente estudo. A literatura pesquisada também não aponta esse fator como causa da hipoalbuminemia nesses pacientes.

Outra complicação que surge com frequência nos indivíduos com EBH é a anemia, que pode ocorrer como resultado da perda sanguínea pelas feridas abertas, da baixa ingestão e má absorção de ferro. Além da anemia ferropriva, esses pacientes podem desenvolver anemia da doença crônica (81). No presente estudo, enquanto os pacientes com EBS não apresentaram anemia, os cinco pacientes com EBDR apresentaram anemia hipocrômica e microcítica, com baixos valores de ferro em quatro desses pacientes e ferritina baixa em três desses pacientes. No estudo de Reyes et al, envolvendo pacientes com EBJ e EBD, todos os sete pacientes tinham anemia (25).

A média das concentrações séricas de hemoglobina encontrada nos pacientes deste estudo foi de 9,9 g/dL. Este resultado aproxima-se da média de 9,3 g/dL relatada por Bruckner et al. (27) e 9,4 g/dL observada no estudo de Fu et al (28), ambos em 2011.

Valores de hemoglobina inferiores a 10 g/dL fazem com que a cicatrização das feridas seja prejudicada em decorrência da baixa oxigenação dos tecidos. No entanto, a literatura não aponta um manejo ideal para a anemia nesses casos (21).

Cuidados com a pele, prevenção e tratamento de infecções podem minimizar as perdas de sangue pelas lesões cutâneas. A suplementação oral de ferro para a correção da anemia é bastante utilizada, mas sua eficácia individual é variável. Além disso, a adesão a esse tratamento é prejudicada pelos transtornos gastrointestinais dele decorrentes, como a exacerbação da constipação (21, 81). Em casos com concentrações de hemoglobina constantemente abaixo de 8 g/dL ou pacientes

sintomáticos que não respondem a outras medidas, transfusões de sangue devem ser consideradas (82) .

Com relação à bioquímica osteomineral, não houve alterações nas concentrações séricas de PTH, FA, P e Mg dos pacientes avaliados. Apenas um paciente com EBDR apresentou baixos níveis de PTH (9,44 pg/mL), mas sem alterações nas concentrações séricas de Ca e P (que devem estar presentes nas situações de hipoparatiroidismo). Desta forma, esse valor baixo deve decorrer de erro pré-analítico da amostra do paciente.

Espera-se que a concentração do PTH apresente relação inversa com a 25(OH)D (35) e seu aumento é considerado o primeiro sinal laboratorial detectável de insuficiência desse hormônio.

Neste estudo, apesar dos valores normais do PTH, a dosagem da 25(OH)D evidenciou insuficiência (12 – 20 ng/mL) em todos os pacientes com EBDR e suficiência nos três pacientes com EBS, com uma média de $21,54 \pm 9$ ng/mL. Outros estudos que avaliaram a massa óssea de pacientes com EBH corroboram esses resultados ao relatarem concentrações séricas normais de PTH e FA em todos os pacientes, mesmo nos que apresentaram deficiência ou insuficiência de 25(OH)D (14, 26, 27). Esses achados nos fazem questionar até que ponto as concentrações séricas adotadas como referência atual para insuficiência e deficiência da 25(OH)D refletem uma real hipovitaminose D.

Esses dados encontrados nos pacientes estudados também são importantes na avaliação da adesão dos mesmos à suplementação de vitamina D, à qual todos são orientados, uma vez que as lesões de pele comprometem a ativação inicial do eixo metabólico da vitamina D. Valores mais baixos da 25(OH)D refletem baixa adesão à terapêutica de reposição ou administração em doses insuficientes e esse aspecto deve ser conversado com o paciente e seus responsáveis.

A amostra estudada por Rodari et al. apresentou valores de 25(OH)D entre 12 e 20 ng/mL em 20% dos indivíduos e 45% apresentaram valores inferiores a 12 ng/mL, com uma média de $15,06 \pm 9,53$ ng/mL (14). Enquanto Bruckner et al observaram valores inferiores a 20 ng/mL em apenas 8% dos pacientes (27) e Reyes et al. não identificaram concentrações menores que essa em nenhuma das sete crianças participantes do estudo (25).

Todos os estudos prévios citados acima relataram alta prevalência de insuficiência e deficiência de vitamina D em seus pacientes, uma vez que utilizaram

30 ng/dL como referência para suficiência de 25(OH)D. Já no estudo de Fewtrell et al., concentrações séricas de 25(OH)D (média: 22,4 ng/mL) dentro do intervalo de referência de 6 a 40 ng/mL e com intervalo interquartil de 12,4 a 27,6 ng/mL, foram consideradas adequadas. Dessa forma, indivíduos com valores muito baixos de vitamina D apresentaram “suficiência” dessa vitamina.

Os indivíduos avaliados no presente estudo não utilizavam medicações capazes de aumentar o catabolismo da vitamina D, como anticonvulsivantes, antifúngicos ou glicocorticoides.

Apesar de Brasília ser uma cidade de insolação constante ao longo do ano, indivíduos com EBH apresentam diversos fatores que podem contribuir para a hipovitaminose D, como o uso de bandagens em extensas áreas do corpo, comprometimento nutricional e atividades ao ar livre limitadas (25) pelas restrições de mobilidade que esses pacientes podem desenvolver, principalmente nas formas mais graves da doença. Por isso a suplementação de vitamina D3 deve ser assegurada.

Como as correlações genótipo-fenótipo da EBH nem sempre foram demonstradas e os sujeitos com as mesmas mutações genéticas frequentemente apresentavam características clínicas muito diferentes; alguns autores aventaram a possibilidade de que na gênese de EBH, além das mutações genéticas, outros fatores pudessem ser significativos na origem das alterações sistêmicas presentes em alguns indivíduos. Entre esses fatores está o estado inflamatório crônico, consequente às lesões persistentes e às infecções (38).

Optou-se, no presente estudo, pela análise das concentrações séricas de PCR e IL-6 para a avaliação da atividade inflamatória nos pacientes com EBH. A dosagem da PCR detectou valores elevados desse marcador inflamatório, com uma média de $3,6 \pm 3,1$ mg/dL. Todos os pacientes com EBDR apresentaram valores maiores que 4,21 mg/dL, com uma média de $5,8 \pm 1,5$ mg/dL entre eles, enquanto os pacientes com EBS apresentaram valores dentro da normalidade. Esses resultados estão de acordo com a literatura pesquisada (27, 34) e alcançaram valores próximos aos obtidos por Bruckner et al, que observou uma média de 5,9 mg/dL em 24 pacientes, dos quais 83% tinham EBDR (27).

Altos níveis séricos de PCR também foram encontrados nos estudos de Rodari et al. (média = 2,14 mg/dL) e Fu et al. (média = 6,1 mg/dL) (14, 28).

No presente estudo, concentrações séricas elevadas de IL-6 foram identificadas em seis pacientes, em todos com EBDR e em uma com EBS, com média

de 25,5 pg/mL \pm 24 (Vr: inferior a 6,4 pg/mL). Observou-se também que a média da IL-6 dos pacientes com EBDR foi significativamente maior (38,9 pg/mL) que a dos pacientes com EBS (3,15 pg/mL), $p = 0,014$, corroborando que as formas mais graves da doença se relacionam com maior estado inflamatório.

Poucos estudos avaliaram os valores de IL-6 em pacientes com EBH e, como no presente estudo, observaram concentrações séricas elevadas da mesma nesses indivíduos, principalmente nos casos de EBDR (37, 38, 41).

Kawakami et al. observaram altas concentrações séricas de IL-6 (média de 54,34 pg/mL) nos cinco indivíduos envolvidos no estudo (quatro com EBDR e um com EBJ) (41). Esposito et al. relataram concentração sérica média de 33,4 pg/mL de IL-6 ao estudar 42 pacientes com EBH (38). Os resultados dos estudos de Annicchiarico et al. e Esposito et al. reforçaram a ideia de que a EB é uma doença inflamatória sistêmica, principalmente nas formas graves da doença, ao detectarem concentrações de IL-6 e outras citocinas inflamatórias significativamente maiores em pacientes com EBD do que em pacientes com EBS e controles saudáveis. Além disso, a concentração sérica de IL-6 foi positivamente correlacionada com o escore de Birmingham nesses estudos (37, 38).

Novos estudos, com populações maiores, são necessários para melhor estabelecer o papel real da IL-6 na fisiopatologia da EBH. No entanto, os resultados encontrados até o momento estimulam o possível emprego futuro de agentes biológicos voltados para redes específicas de citocinas nessa doença. Essa abordagem terapêutica alternativa poderia ser útil para o controle da inflamação sistêmica e suas complicações a longo prazo, como a amiloidose, evitando consequências que ameaçam a vida e melhorando a qualidade de vida (37).

5.2 DENSIDADE MINERAL ÓSSEA E SUAS CORRELAÇÕES

5.2.1 Densidade Mineral Óssea

Apenas cinco estudos prévios examinaram o envolvimento ósseo em crianças com EBH; todos, assim como o presente estudo, tiveram uma amostra relativamente

pequena de pacientes devido à raridade da doença e a maioria apenas se concentrou nas formas graves e generalizadas. Todos identificaram de forma concordante a massa óssea reduzida como uma complicação de formas generalizadas dessa doença (14, 25-28).

No presente estudo, a média do escore Z da coluna lombar (L1-L4) corrigido para idade-estatura foi de $-1,0 \pm 1,3$. Observou-se baixa massa óssea em L1-L4 em três pacientes com EBDR do sexo feminino, mas nenhum paciente apresentou baixa massa óssea na avaliação do escore Z de corpo total corrigido para idade-estatura, apresentando uma média de $-0,2 \pm 1,2$. O escore Z do fêmur proximal, avaliado nos pacientes maiores de 18 anos, apresentou valores dentro da normalidade. Nenhum paciente apresentou indícios de fratura vertebral pela densitometria da coluna lombar (diferença na DMO entre uma vértebra e sua adjacente maior que 1 DP) ou relatou dor lombar.

O fato de termos encontrado baixa massa óssea apenas na coluna lombar pode ser explicado porque os ossos dessa região são constituídos principalmente por osso trabecular, enquanto no fêmur e no corpo total predomina osso cortical. Como o osso trabecular é mais vulnerável a distúrbios metabólicos que o osso cortical, ele é mais suscetível a não se mineralizar adequadamente ou a desmineralizar mais rapidamente.

A comparação entre os resultados presentes e os resultados de cada um dos estudos já publicados não foi possível, quer devido à utilização de densitômetros diferentes, métodos diferentes de ajuste para o tamanho do osso na DXA ou parâmetros densitométricos que não foram mostrados para todos os pacientes.

No estudo transversal de Reyes et al 7 crianças com formas generalizadas de EBH foram avaliadas e três apresentavam baixa DMO (L2-L4) (25). Fewtrell et al. realizaram um estudo retrospectivo de 39 pacientes com EBH, e descobriram que as crianças com EBDR e EBJ apresentavam DMO (L2-L4) mais baixa do que indivíduos com EBS ou com controles saudáveis da mesma idade (26).

Bruckner et al. avaliaram a DMO de 24 pacientes com EBH, mas apenas 18 tiveram avaliação da DMO de coluna lombar (L1-L4) corrigida para estatura, com média de $-1,0 \pm 1,2$, muito próxima à encontrada no presente estudo. Os mesmos autores ainda observaram baixa massa óssea na coluna lombar (L1-L4) de 28% dos pacientes avaliados após ajuste para estatura (27).

Enquanto os resultados anteriores se basearam em estudos transversais, Fu et al. realizaram um estudo longitudinal, ao acompanhar 17 pacientes com EBH

generalizada por 12 meses. Na maioria dos casos, observaram um aumento absoluto na DMO, embora os pacientes não tenham conseguido tanto quanto esperado para suas idades. Por meio desse estudo, os autores concluíram que a baixa DMO em crianças com EBDR poderia ser explicada em grande parte por distúrbios na aquisição de massa óssea em vez de perda óssea acelerada (28).

Finalmente, Rodari et al. avaliaram 20 indivíduos com EBH e, em consonância com os estudos anteriores, observaram que 40% dos pacientes apresentaram baixa massa óssea na coluna lombar (L1-L4), a qual permaneceu baixa quando ajustada para idade óssea em 7 pacientes (35%) (14).

Fraturas de compressão da coluna lombar foram identificadas em três estudos prévios em uma pequena percentagem de pacientes (26-28). Assim como no estudo de Rodari et al, radiografia da coluna lombar não foi realizada em pacientes assintomáticos no presente estudo. No entanto, com base em um estudo recente, que demonstra uma relação consistente entre os escores Z de DMO e as fraturas vertebrais (83), as radiografias da coluna vertebral devem ser consideradas durante o seguimento de pacientes com baixa DMO para definir a melhor abordagem terapêutica.

Embora os bisfosfonatos possam ter papel no tratamento de fraturas patológicas incapacitantes em crianças com EBH, há dados insuficientes para recomendar seu uso para prevenção de fraturas em pacientes com baixa massa óssea (28).

Como as mutações genéticas típicas da EBH não afetam o colágeno tipo 1, predominante no osso (26, 29, 30), pode-se inferir que as alterações ósseas não tenham causa genética. Apesar de não estar completamente esclarecida, a etiologia da baixa massa óssea nesses pacientes provavelmente é multifatorial (26). Entre os fatores que podem influenciar a DMO desses indivíduos podemos citar a restrição da mobilidade, a hipovitaminose D, o comprometimento nutricional e a inflamação sistêmica, presentes nas formas mais graves de EBH.

Parâmetros que avaliam esses fatores foram analisados neste estudo para avaliar possíveis correlações entre eles e a DMO dos indivíduos com EBH.

5.2.2 Densidade Mineral Óssea e Mobilidade

A atividade física é crítica para o desenvolvimento esquelético, uma vez que a carga mecânica promove estímulo trófico sobre o tecido ósseo. Mas a dor, a anemia crônica e as contraturas contribuem para uma mobilidade frequentemente limitada em pacientes com tipos graves de EBH (34).

Reyes et al. constataram que crianças com as menores DMO, também eram as mais mal nutridas e mais sedentárias (25). Fewtrell et al. também observaram essa associação e, após ajustar para o tamanho do corpo e do osso, notaram que as crianças móveis tinham CMO 16% maior que as imóveis. Além disso, a mobilidade foi um preditor mais forte e significativo de CMO do que o tipo de EBH (26).

No estudo de Bruckner et al., o grau de mobilidade do indivíduo também foi positivamente associado à aDMO para idade cronológica (27). No entanto, Fu et al. compararam indivíduos com aumento da aDMO com aqueles cujos escores diminuíram ou não se alteraram e não foram observadas diferenças nas características clínicas (incluindo mobilidade) ou laboratoriais entre os dois grupos (28).

A falta de homogeneidade e de objetividade entre as classificações da mobilidade dos estudos anteriores são fatores que podem influenciar as divergências entre esses resultados. A maioria utilizou escalas categóricas para avaliar a mobilidade, enquanto escalas quantitativas seriam mais precisas e objetivas, facilitando a comparação dessa variável entre os estudos. A comparação entre os parâmetros densitométricos obtidos por densitômetros diferentes também podem influenciar esses resultados.

Apesar da maioria dos estudos anteriores relatarem correlação positiva entre a mobilidade e a aDMO (25-27), no presente estudo os valores médios da aDMO de L1-L4 não diferiram significativamente entre os graus de mobilidade ($p = 0,1714$). Esse fato pode ter decorrido do número pequeno de participantes ou da influência de pacientes que se destacam do grupo. Desta forma, realizou-se uma nova avaliação parcial ao observar-se que a paciente F3 apresentava-se como um ponto fora da curva em relação ao escore Z da aDMO do grupo com mobilidade preservada, pois apresenta uma aDMO de -2,4, díspare em relação aos valores encontrados no grupo com mobilidade preservada. Quando se avaliou o grupo total sem a paciente F3,

observou-se uma forte correlação positiva entre escore Z de aDMO e mobilidade ($r = 0,86$ e $p = 0,013$). Essa análise parcial, com a retirada do paciente F3, potencialmente demonstra haver uma correlação direta entre essas duas variáveis, dado que não pode ser descartado.

Também pode ser questionado o porquê da paciente F3 apresentar uma massa óssea baixa, mesmo não possuindo restrições de mobilidade. Deve-se lembrar que outros fatores que influenciam a massa óssea estão alterados e podem contribuir para a baixa aDMO da coluna lombar dessa paciente. Entre eles estão o baixo IMC/I, a anemia e a insuficiência de 25(OH)D, refletindo um comprometimento nutricional. Além disso, as elevadas concentrações séricas de IL-6, que tem ação osteoclastogênica, também poderiam ter um papel nesse caso.

5.2.3 Densidade Mineral Óssea e Escore Z do IMC/I

Encontrou-se uma forte correlação positiva e estatisticamente significativa entre o IMC e a aDMO da coluna lombar corrigida para idade-estatura ($r = 0,80$, $p = 0,03$) neste estudo.

Em uma amostra composta por 20 pacientes com EBH, Rodari et al. observaram correlação moderada, mas estatisticamente significante, do IMC com a aDMO da coluna lombar ($r = 0.56$, $P = 0.0001$), mas demais estudos não comprovaram tal correlação (26-28).

Como essa associação não foi observada em todos os estudos prévios sobre a DMO em pacientes com EBH (25-28) e os que a encontraram contavam com amostras pequenas, é importante que estudos com populações maiores possam comprovar essa influência do IMC/I sobre o escore Z da aDMO da coluna lombar.

Essa correlação possui uma base fisiopatológica que a justifica, uma vez que a massa corporal mais elevada impõe uma carga mecânica maior sobre o osso, resultando em um aumento da massa óssea para acomodar essa carga, além de representar melhor estado nutricional do indivíduo, que também influencia diretamente a massa óssea.

Existe correlação positiva bem descrita entre massa magra e massa óssea. O IMC/I baixo também reflete um estado de má nutrição em decorrência da baixa

ingestão e má absorção de nutrientes nos pacientes com EBH. A falta de substrato à formação óssea (proteínas e minerais) pode contribuir para a baixa massa óssea observada nesses pacientes, principalmente quando há deficiências de cálcio e vitamina D.

Além disso, os adipócitos são importantes fontes de estrogênio e de outros hormônios como leptina, insulina, preptina e amilina, os quais agem de forma direta e/ou indireta sobre a atividade de osteoblastos e osteoclastos, com resultante desenvolvimento da massa óssea (84).

No entanto, nem todo tipo de gordura é benéfica para a massa óssea. A gordura subcutânea e a visceral apresentam efeitos contrários sobre o arcabouço ósseo. A gordura visceral promove inflamação sistêmica, que pode levar à diminuição da massa óssea por conta das citocinas inflamatórias pró-osteoclastogênicas. Já a gordura subcutânea parece exercer um efeito positivo sobre o pico de massa óssea, uma vez que ela produz proteínas com um potencial protetor da massa óssea, como a adiponectina (84).

Como o programa do densitômetro utilizado nesse estudo não apresenta banco de dados que classifica o compartimento de massa gorda e de massa magra de acordo com a idade e gênero do paciente (classificando-o em escore Z), não foi possível correlacionar os compartimentos massa gorda e massa magra com a aDMO dos pacientes.

5.2.4 Densidade Mineral Óssea e Vitamina D

O calcitriol, forma ativa da vitamina D, é um fator determinante da saúde óssea, pois promove a absorção intestinal de cálcio e fósforo e regula de modo direto e indireto a reabsorção renal desses eletrólitos, que, por meio da formação de cristais de hidroxiapatita, promovem mineralização da matriz óssea (35).

Observou-se, neste estudo, que as concentrações séricas de 25(OH)D apresentaram correlação positiva, de intensidade forte e estatisticamente significativa com a aDMO de L1-L4 corrigida para idade-estatura ($r= 0,80$, $p= 0,029$).

Deve-se ressaltar que a comparação entre os resultados do presente estudo e cada um dos já publicados pode ser prejudicada devido à utilização de densitômetros

diferentes, métodos diferentes de ajuste para o tamanho do osso na DXA ou parâmetros densitométricos e laboratoriais que não foram mostrados para todos os pacientes dos estudos anteriores. Além disso, alguns estudos utilizaram métodos laboratoriais e valores de referência diferentes dos usados nesta pesquisa para avaliação da suficiência da vitamina D.

Os resultados do estudo de Rodari et al. foram os que mais se aproximaram dos nossos, uma vez que a concentração sérica de 25(OH)D, nesse estudo, foi um dos elementos mais importantes associados positivamente à aDMO da coluna lombar de pacientes com EBH ($p = 0,016$) (14).

No estudo de Reyes et al., envolvendo sete crianças com formas generalizadas de EBH e encontrou-se baixa DMO em três pacientes e baixas concentrações séricas de 25(OH)D em quatro (25). No estudo retrospectivo de 39 pacientes com EBH, Fewtrell et al. (26) observaram que as crianças com EBDR e EBJ apresentavam DMO mais baixa do que indivíduos controle da mesma idade ou pacientes com EBS. Porém, as dosagens séricas de 25(OH)D de apenas 15 pacientes (38%) estavam disponíveis e todas revelaram concentrações séricas dessa vitamina dentro do intervalo de referência, mas o mesmo era muito amplo (6 a 40 ng/mL). Dessa forma, indivíduos com valores muito baixos de vitamina D foram classificados como suficientes nessa vitamina.

Bruckner et al. encontraram baixa massa óssea em 28% das crianças com formas graves e generalizadas de EBH, após ajuste para estatura. Além disso, eles demonstraram que as concentrações séricas de 25(OH)D eram frequentemente baixas nesses pacientes, mas não apresentaram correlação significativa com o escore Z da aDMO da coluna lombar (27).

Talvez essa divergência de resultados possa ser explicada pelo fato de Bruckner et al. considerarem valores maiores como insuficiência de 25(OH)D (<32 ng/mL) e utilizarem uma amostra com uma média mais alta dessa concentração (27,5 ng/mL), enquanto a média da concentração sérica de 25(OH)D no presente estudo era de 21,54 ng/mL e no de Rodari et al, 15,06 ng/mL. Dessa forma, Bruckner et al. podem ter relacionado insuficiência de vitamina D a valores que não são capazes de causar comprometimento da massa óssea e, conseqüentemente, não alterar o escore Z da aDMO da coluna lombar.

Diante dos resultados contraditórios citados acima, novos estudos devem ser realizados, com populações maiores de indivíduos com EBH, mesmos métodos de

dosagem da 25(OH)D e ajustes densitométricos semelhantes, na tentativa de diminuir a heterogeneidade entre os métodos e as amostras estudadas para que a real correlação entre as concentrações séricas de 25(OH)D e o escore Z da coluna lombar seja estabelecida.

5.2.5 Densidade Mineral Óssea e Hemoglobina

A anemia é uma complicação frequente dos pacientes com EBH. Ela pode ocorrer como resultado da perda sanguínea pelas feridas abertas, da baixa ingestão e má absorção de ferro. Além da anemia ferropriva, esses pacientes podem desenvolver anemia da doença crônica uma vez que as lesões em cicatrização e infecções geram maior circulação de citocinas capazes de suprimir a eritropoiese e diminuir a eficiência da utilização do ferro (19, 81).

No presente estudo, as concentrações séricas de hemoglobina apresentaram forte correlação positiva e estatisticamente significativa com a aDMO (L1-L4) corrigida para idade-estatura ($r= 0,77$, $p= 0,04$). Apesar de Bruckner et al também encontrarem associação entre essas variáveis, a intensidade dessa correlação não foi forte como a encontrada no presente estudo (27).

Todos os pacientes de Reyes et al. apresentavam anemia e 43%, baixa massa óssea (25). Apesar de observarem uma média baixa de hemoglobina (9,4 g/dL) nos pacientes com EBH, Fu et al. não detectaram diferenças entre os achados laboratoriais dos pacientes cujos escores Z de aDMO da coluna lombar diminuíram ou não alteraram e dos pacientes com aumento desses escores.

Poucos estudos avaliaram essa correlação e novas investigações devem ser realizadas para comprová-la. Porém, tanto a anemia quanto a baixa massa óssea podem surgir em decorrência da desnutrição e da inflamação, presentes nos indivíduos com formas graves de EBH. Como possuem fatores de risco semelhantes, não seria inesperado que ambas se correlacionassem positivamente.

5.2.6 Densidade Mineral Óssea e Marcadores Inflamatórios

Os resultados desta pesquisa foram corroborados por alguns estudos que também identificaram elevadas concentrações séricas de PCR em indivíduos com formas graves e generalizadas de EBH (14, 27, 28). No entanto, sua relação com a DMO desses indivíduos não está clara. Várias outras doenças pediátricas caracterizadas por inflamação crônica, como artrite reumatoide, fibrose cística e doença inflamatória intestinal, estão associadas à baixa massa óssea (85). Por isso, o interesse em avaliar a correlação entre marcadores inflamatórios e a massa óssea dos pacientes com EBH, sendo analisados o PCR, IL-6, ferritina e concentração de plaquetas.

Apesar de Rodari et al. relatarem correlação negativa significativa da concentração sérica de PCR com a aDMO da coluna lombar, tal correlação era de fraca intensidade ($r = -0,48$, $p = 0,001$) (14).

Fu et al. observaram, em estudo longitudinal, que pacientes cujo escore Z da aDMO da coluna lombar se elevou, os valores de PCR eram ligeiramente inferiores aos valores dos pacientes que apresentaram redução ou não tiveram alteração desse escore. Porém, essa diferença não foi significativa (28). Já no estudo de Bruckner et al. os valores de PCR demonstraram correlação negativa estatisticamente significativa com a aDMO para idade cronológica, mas essa relação se tornou menos significativa após a correção da DMO para a idade óssea (27).

No presente estudo, as concentrações séricas de PCR demonstraram forte correlação negativa com o escore Z corrigido para idade-estatura da aDMO de L1-L4, mas sem significância estatística.

Estudos prévios demonstraram um desequilíbrio nas as concentrações séricas de citocinas nos pacientes com EBH, o que refletiria uma resposta inflamatória sistêmica (37, 38) que pode ter impacto na fisiologia óssea. Algumas dessas citocinas podem estimular a atividade osteoclástica (reabsorção óssea) e inibir a atividade osteoblástica (formação óssea).

Nenhum dos estudos anteriormente citados correlacionou o aumento de citocinas pró-inflamatórias com a DMO dos pacientes com EBH, mas alguns correlacionaram positivamente os níveis de IL-6 com a extensão e a gravidade da

doença (37, 38). Esse aumento de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6, parece confirmar que a EBH seja uma doença sistêmica e explicar o envolvimento extracutâneo frequentemente observado nesses casos.

Com base nesses achados, este estudo avaliou se haveria correlação entre as concentrações séricas de IL-6 e o a aDMO corrigida para idade-estatura. Apesar de serem detectadas concentrações elevadas de IL-6 na maioria dos pacientes (seis em oito), encontrou-se apenas uma correlação negativa de intensidade moderada e sem significância estatística ($r = -0,54$, $p = 0,21$) com a aDMO (L1-L4) corrigida para idade-estatura.

Entretanto, neste estudo, foi encontrada correlação fortemente positiva e significativa entre as concentrações séricas de IL-6 e PCR ($r = 0,86$, $p = 0,005$), confirmando sua sincronia na atividade inflamatória sistêmica.

Embora a literatura atual não contenha outros estudos sobre a correlação das concentrações séricas de IL-6 com a DMO em pacientes com EBH, em outras doenças que cursam com inflamação sistêmica essa associação já foi demonstrada.

Em um estudo envolvendo 21 crianças com colite ulcerativa, a IL-6 elevada no soro foi preditiva da redução da densidade mineral óssea (86).

A IL-6 é uma das principais citocinas pró-inflamatórias envolvidas também na artrite reumatóide e o tratamento desses pacientes com o anticorpo anti-IL-6R (Tocilizumabe) revelou melhora da DMO nos pacientes com osteopenia prévia (55).

Pacientes com vírus da imunodeficiência humana (HIV) apresentam aumento de 40-60% dos níveis séricos de IL-6 e níveis basais desta interleucina são independentemente associados com progressão para osteopenia ou osteoporose em pacientes HIV positivos sem uso de terapia antirretroviral (43).

O presente estudo foi composto por uma pequena amostra e, como não há estudos anteriores que corroborem a falta de correlação entre as concentrações séricas de IL-6 e DMO, novos estudos devem ser realizados a fim de explorar tal associação.

Os demais marcadores inflamatórios avaliados, ferritina e plaquetas, também não apresentaram correlações estatisticamente significativas com o escore densitométrico dos pacientes neste estudo.

5.3 PONTOS POSITIVOS E LIMITAÇÕES DO ESTUDO

A análise da DMO a partir do ajuste do escore Z da aDMO (L1-L4) para idade-estatura foi um aspecto importante para evitar a interpretação inadequada da massa óssea em pacientes com comprometimento estatural. Nem todos os estudos anteriores realizaram métodos de ajuste para pacientes com baixa estatura, o que acarreta potenciais riscos de interpretação, e os que fizeram notaram melhora do escore Z da aDMO (L1-L4) de quase todos os pacientes.

Entretanto há desvantagens nessa técnica de ajuste da massa óssea quando se está diante de pacientes com baixa estatura e que já entraram na puberdade, pois apesar de se ajustar o tamanho do osso para a idade-estatura, deve-se lembrar que os hormônios da puberdade (hormônio de crescimento e hormônios sexuais) também interferem na formação óssea e impactam na forma e densidade óssea, tornando esse ajuste menos preciso (59).

Um dos indivíduos que fez parte da amostra inicial foi um exemplo de complicação da técnica citada acima. Ele foi excluído posteriormente, uma vez que era adulto (23 anos), mas apresentava baixa estatura grave (escore Z de estatura: - 6,1 DP). O ajuste para idade-estatura deste paciente o levaria a ser interpretado como apresentando 9,7 anos. No entanto, seus ossos já sofreram o impacto dos esteroides sexuais e avaliá-lo densitometricamente como uma criança de 9,7 anos incorreria em inadequação, pelo conhecido efeito dos esteroides sexuais na formação da massa óssea. Dessa forma, a DMO resultante não refletiria a DMO real do paciente.

Quanto à coleta dos dados antropométricos, não se espera que tenham ocorrido falhas na aferição do peso e da altura dos pacientes, apesar das dificuldades que a equipe do ambulatório possa ter enfrentado para posicionar pacientes com dores, bolhas, dificuldade de extensão dos membros inferiores e para manter a coluna e pescoço retos. Esse fato se expressa por que as medições são realizadas pela mesma profissional que foi treinada e tem vários anos de experiência nesse procedimento.

Alguns indivíduos não foram incluídos na pesquisa por limitações inerentes aos equipamentos utilizados, como ocorreu com os pacientes menores de cinco anos de idade, que não poderiam realizar a densitometria óssea, uma vez que o *software* do

aparelho do Setor de Radiologia do HUB só permite a leitura da DMO para indivíduos acima de 5 anos de idade.

Além disso, a massa óssea avaliada pela DXA se expressa na forma de aDMO e não vDMO. Apesar da técnica de ajuste utilizada ser preconizada pelas entidades científicas que normatizam o estudo de densitometria corporal, elas não são isentas de erro, e isso deve ser considerado na avaliação dos resultados.

O desenho transversal deste estudo não permitiu determinar se a baixa aDMO, observada em alguns pacientes, reflete a aquisição reduzida de massa óssea, o aumento da perda óssea ou uma combinação desses dois processos.

No entanto, a maioria das limitações deste estudo são decorrentes da pequena amostra avaliada, a qual pode ser justificada pela raridade da doença. Diante de uma amostra tão pequena, o poder estatístico torna-se limitado para detectar correlações significantes entre as variáveis avaliadas e extrapolá-las para a população de pacientes com EBH.

6 CONCLUSÃO

A partir da avaliação de variáveis clínicas, antropométricas e metabólicas desse grupo de pacientes com EBH e da relação dessas variáveis com a aDMO dos mesmos, observou-se que:

- Os pacientes com EBS não apresentavam baixa estatura ou baixo IMC, enquanto três pacientes com EBDR apresentavam baixa estatura e três com a mesma forma de EBH também apresentavam baixo IMC.
- Metade dos pacientes do grupo total apresentavam mobilidade sem restrições, sendo que destes apenas uma tinha EBDR.
- A aDMO de L1-L4 apresentou correlação fortemente positiva e significativa com o grau de mobilidade dos pacientes, quando a análise foi feita retirando-se a paciente cujos dados estavam díspares dos achados no grupo de mobilidade preservada.
- Não se observou alteração do início ou da progressão puberal na maioria dos pacientes estudados (sete).
- Anemia estava presente em todos os pacientes com EBDR e não foi observada em nenhum paciente com EBS.
- Hipoalbuminemia foi identificada em seis dos indivíduos estudados, com os menores valores presentes nos pacientes com EBDR.
- Em relação ao metabolismo osteomíneral, apesar das concentrações séricas de P, Mg, FA e PTH estarem dentro da normalidade, valores de insuficiência de 25(OH)D foram observados em todos os pacientes com EBDR e de suficiência em todos os pacientes com EBS.
- Valores elevados de PCR estavam presentes em todos os pacientes com EBDR, enquanto os pacientes com EBS apresentavam valores normais desse marcador inflamatório.
- A média da IL-6 dos pacientes com EBDR foi significativamente maior que a dos pacientes com EBS.
- Houve correlação fortemente positiva e significativa entre as concentrações séricas de IL-6 e PCR, confirmando sua correspondência na caracterização da atividade inflamatória sistêmica associada à EB.
- Apesar de serem detectadas concentrações elevadas de IL-6 na maioria dos

pacientes (seis em oito), não se observou correlação significativa desse marcador com a aDMO (L1-L4) corrigida para idade-estatura.

- O comprometimento da massa óssea da coluna lombar foi observado em pacientes com EBDR, mas não em pacientes com EBS.
- Nenhum paciente apresentou baixa massa óssea na avaliação do corpo total corrigido para idade-estatura ou no fêmur proximal (no caso dos pacientes maiores de 18 anos).
- Entre as variáveis clínicas e laboratoriais estudadas, o estado nutricional, as concentrações séricas de 25(OH)D e de hemoglobina foram as que apresentaram correlações positivas, de intensidade forte e estatisticamente significativas com a aDMO de L1-L4 corrigida para idade-estatura dos pacientes com EBH.
- Nenhuma correlação estatisticamente significativa foi encontrada entre as variáveis clínicas e bioquímicas estudadas e a aDMO de corpo total corrigida para idade-estatura dos pacientes do grupo estudado.

A partir dos resultados deste estudo e com as devidas ressalvas, limitações e critérios analíticos, observamos que os pacientes com as formas mais graves de EBH apresentam maior risco metabólico para comprometimento de sua massa óssea, do seu crescimento e ganho ponderal. Dentro desse contexto, é importante fomentar a elaboração de estudos que forneçam mais instrumentos para a orientação de abordagens mais eficientes que assegurem uma melhor nutrição e maior mobilidade aos pacientes com EBH, respeitando suas restrições físicas. Nossa expectativa é de que esse estudo, apesar de simples e com número pequeno de indivíduos, possa fornecer mais dados nessa área do conhecimento e possamos contribuir com um melhor entendimento das comorbidades associadas aos pacientes com EBH.

REFERÊNCIAS

1. Fine JD, Eady RA, Bauer EA, Bauer JW, Bruckner-Tuderman L, Heagerty A, et al. The classification of inherited epidermolysis bullosa (EB): Report of the Third International Consensus Meeting on Diagnosis and Classification of EB. *J Am Acad Dermatol*. 2008;58(6):931-50.
2. Intong LR, Murrell DF. Inherited epidermolysis bullosa: new diagnostic criteria and classification. *Clin Dermatol*. 2012;30(1):70-7.
3. Haber RM, Hanna W, Ramsay CA, Boxall LB. Hereditary epidermolysis bullosa. *J Am Acad Dermatol*. 1985;13(2 Pt 1):252-78.
4. Gupta R, Woodley DT, Chen M. Epidermolysis bullosa acquisita. *Clin Dermatol*. 2012;30(1):60-9.
5. El Hachem M, Zambruno G, Bourdon-Lanoy E, Ciasulli A, Buisson C, Hadj Rabia S. Multicentre consensus recommendations for skin care in inherited epidermolysis bullosa. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2014; 9.
6. Margari F, Lecce PA, Santamato W, Ventura P, Sportelli N, Annicchiarico G, et al. Psychiatric symptoms and quality of life in patients affected by epidermolysis bullosa. *J Clin Psychol Med Settings*. 2010;17(4):333-9.
7. Siañez-González C, Pezoa-Jares R, Salas-Alanis JC. [Congenital epidermolysis bullosa: a review]. *Actas Dermosifiliogr*. 2009;100(10):842-56.
8. Fine JD. Epidemiology of Inherited Epidermolysis Bullosa Based on Incidence and Prevalence Estimates From the National Epidermolysis Bullosa Registry. *JAMA Dermatol*. 2016;152(11):1231-8.
9. Pearson RW. Studies on the pathogenesis of epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol*. 1962;39:551-75.
10. Chiaverini C, Bourrat E, Mazereeuw-Hautier J, Hadj-Rabia S, Bodemer C, Lacour JP. [Hereditary epidermolysis bullosa: French national guidelines (PNDS) for diagnosis and treatment]. *Ann Dermatol Venereol*. 2017;144(1):6-35.
11. Fine JD, Mellerio JE. Extracutaneous manifestations and complications of inherited epidermolysis bullosa: part I. Epithelial associated tissues. *J Am Acad Dermatol*. 2009;61(3):367-84; quiz 85-6.

12. Fine JD, Bruckner-Tuderman L, Eady RA, Bauer EA, Bauer JW, Has C, et al. Inherited epidermolysis bullosa: updated recommendations on diagnosis and classification. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(6):1103-26.
13. Laimer M, Prodinger C, Bauer JW. Hereditary epidermolysis bullosa. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2015;13(11):1125-33.
14. Rodari G, Guez S, Manzoni F, Chalouhi KK, Profka E, Bergamaschi S, et al. Birmingham epidermolysis severity score and vitamin D status are associated with low BMD in children with epidermolysis bullosa. *Osteoporos Int*. 2016.
15. Moss C, Wong A, Davies P. The Birmingham Epidermolysis Bullosa Severity score: development and validation. *Br J Dermatol*. 2009;160(5):1057-65.
16. Oliveira ZN, Périgo AM, Fukumori LM, Aoki V. Immunological mapping in hereditary epidermolysis bullosa. *An Bras Dermatol*. 2010;85(6):856-61.
17. Boeira VL, Souza ES, Rocha BeO, Oliveira PD, Oliveira MeF, Rêgo VR, et al. Inherited epidermolysis bullosa: clinical and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol*. 2013;88(2):185-98.
18. Shinkuma S. Dystrophic epidermolysis bullosa: a review. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2015;8:275-84.
19. Fine JD, Mellerio JE. Extracutaneous manifestations and complications of inherited epidermolysis bullosa: part II. Other organs. *J Am Acad Dermatol*. 2009;61(3):387-402; quiz 3-4.
20. Fine JD, Johnson LB, Weiner M, Stein A, Cash S, Deleoz J, et al. Eye involvement in inherited epidermolysis bullosa: experience of the National Epidermolysis Bullosa Registry. *Am J Ophthalmol*. 2004;138(2):254-62.
21. Zidorio AP, Dutra ES, Leão DO, Costa IM. Nutritional aspects of children and adolescents with epidermolysis bullosa: literature review. *An Bras Dermatol*. 2015;90(2):217-23.
22. Fine JD, Johnson LB, Weiner M, Suchindran C. Gastrointestinal complications of inherited epidermolysis bullosa: cumulative experience of the National Epidermolysis Bullosa Registry. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008;46(2):147-58.
23. Bonjour JP, Chevalley T, Ferrari S, Rizzoli R. The importance and relevance of peak bone mass in the prevalence of osteoporosis. *Salud Publica Mex*. 2009;51 Suppl 1:S5-17.
24. Campos LMA, Liphau BL, Silva CAA, Pereira RMR. Osteoporose na infância e na adolescência. *Jornal de Pediatria [Internet]*. 2003; 79:[481-8 pp.].

25. Reyes ML, Cattani A, Gajardo H, García C, McGrath JA, Palisson F. Bone metabolism in children with epidermolysis bullosa. *J Pediatr.* 2002;140(4):467-9.
26. Fewtrell MS, Allgrove J, Gordon I, Brain C, Atherton D, Harper J, et al. Bone mineralization in children with epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol.* 2006;154(5):959-62.
27. Bruckner AL, Bedocs LA, Keiser E, Tang JY, Doernbrack C, Arbuckle HA, et al. Correlates of low bone mass in children with generalized forms of epidermolysis bullosa. *J Am Acad Dermatol.* 2011;65(5):1001-9.
28. Fu T, Lingala B, Kent K, Bachrach LK, Bruckner AL. Patterns of bone mineral acquisition in children with epidermolysis bullosa: a longitudinal study. *Br J Dermatol.* 2011;165(5):1081-6.
29. Moretti L, Notarnicola A, Panella A, Garofalo L, Garofalo R, Santamato A, et al. Severe osteoporosis treated with teriparatide in a patient affected by recessive epidermolysis bullosa dystrophica. *Osteoporos Int.* 2011;22(3):1003-6.
30. George M, Martinez AE, Mellerio JE, Nandi R. Maxillary alveolar process fracture complicating intubation in a patient with epidermolysis bullosa. *Paediatr Anaesth.* 2009;19(7):706-7.
31. MacNabb C, Patton D, Hayes JS. Sclerostin Antibody Therapy for the Treatment of Osteoporosis: Clinical Prospects and Challenges. *J Osteoporos.* 2016;2016:6217286.
32. Koide M, Kobayashi Y, Yamashita T, Uehara S, Nakamura M, Hiraoka BY, et al. Bone Formation Is Coupled to Resorption Via Suppression of Sclerostin Expression by Osteoclasts. *J Bone Miner Res.* 2017.
33. Wijenayaka AR, Kogawa M, Lim HP, Bonewald LF, Findlay DM, Atkins GJ. Sclerostin stimulates osteocyte support of osteoclast activity by a RANKL-dependent pathway. *PLoS One.* 2011;6(10):e25900.
34. Martinez AE, Mellerio JE. Osteopenia and osteoporosis in epidermolysis bullosa. *Dermatol Clin.* 2010;28(2):353-5, xi.
35. Castro LCG The Vitamin D endocrine system. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2011; 55(8):566-75.
36. Maeda SS, Borba VZC, Camargo MBR, Silva DMW, Borges JLC, Bandeira F, et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2014; 58:411-33.

37. Annicchiarico G, Morgese MG, Esposito S, Lopalco G, Lattarulo M, Tampoia M, et al. Proinflammatory Cytokines and Antiskin Autoantibodies in Patients With Inherited Epidermolysis Bullosa. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(42):e1528.
38. Esposito S, Guez S, Orenti A, Tadini G, Scuvera G, Corti L, et al. Autoimmunity and Cytokine Imbalance in Inherited Epidermolysis Bullosa. *Int J Mol Sci*. 2016;17(10).
39. Esposito S, Guez S, Manzoni F, Bosco A, Rigante D. Epidermolysis bullosa and the partnership with autoimmunity: what should we assimilate? *Immunol Res*. 2015;61(1-2):63-9.
40. Tampoia M, Bonamonte D, Filoni A, Garofalo L, Morgese MG, Brunetti L, et al. Prevalence of specific anti-skin autoantibodies in a cohort of patients with inherited epidermolysis bullosa. *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8:132.
41. Kawakami Y, Oyama N, Ohtsuka M, Nakamura K, Kaneko F. Increased serum levels of interleukin-6, immunoglobulin and acute phase protein in patients with the severe clinical form of inherited epidermolysis bullosa. *J Dermatol*. 2005;32(6):503-5.
42. Pietschmann P, Mechtcheriakova D, Meshcheryakova A, Föger-Samwald U, Ellinger I. Immunology of Osteoporosis: A Mini-Review. *Gerontology*. 2016;62(2):128-37.
43. McGinty T, Mirmonsef P, Mallon PW, Landay AL. Does systemic inflammation and immune activation contribute to fracture risk in HIV? *Curr Opin HIV AIDS*. 2016;11(3):253-60.
44. Zupan J, Komadina R, Marc J. The relationship between osteoclastogenic and anti-osteoclastogenic pro-inflammatory cytokines differs in human osteoporotic and osteoarthritic bone tissues. *J Biomed Sci*. 2012;19:28.
45. Itonaga I, Sabokbar A, Sun SG, Kudo O, Danks L, Ferguson D, et al. Transforming growth factor-beta induces osteoclast formation in the absence of RANKL. *Bone*. 2004;34(1):57-64.
46. Kudo O, Fujikawa Y, Itonaga I, Sabokbar A, Torisu T, Athanasou NA. Proinflammatory cytokine (TNFalpha/IL-1alpha) induction of human osteoclast formation. *J Pathol*. 2002;198(2):220-7.
47. Fuller K, Murphy C, Kirstein B, Fox SW, Chambers TJ. TNFalpha potently activates osteoclasts, through a direct action independent of and strongly synergistic with RANKL. *Endocrinology*. 2002;143(3):1108-18.

48. O'Brien W, Fissel BM, Maeda Y, Yan J, Ge X, Gravallesse EM, et al. RANK-Independent Osteoclast Formation and Bone Erosion in Inflammatory Arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2016;68(12):2889-900.
49. Zupan J, Jeras M, Marc J. Osteoimmunology and the influence of pro-inflammatory cytokines on osteoclasts. *Biochem Med (Zagreb).* 2013;23(1):43-63.
50. Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini F, Heymann D. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004;15(6):457-75.
51. Roy B. Biomolecular basis of the role of diabetes mellitus in osteoporosis and bone fractures. *World J Diabetes.* 2013;4(4):101-13.
52. Pfeilschifter J, Köditz R, Pfohl M, Schatz H. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocr Rev.* 2002;23(1):90-119.
53. Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *J Clin Invest.* 2006;116(5):1186-94.
54. Scheidt-Nave C, Bismar H, Leidig-Bruckner G, Woitge H, Seibel MJ, Ziegler R, et al. Serum interleukin 6 is a major predictor of bone loss in women specific to the first decade past menopause. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(5):2032-42.
55. Kume K, Amano K, Yamada S, Kanazawa T, Ohta H, Hatta K, et al. The effect of tocilizumab on bone mineral density in patients with methotrexate-resistant active rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2014;53(5):900-3.
56. Bianchi ML, Leonard MB, Bechtold S, Högler W, Mughal MZ, Schönau E, et al. Bone health in children and adolescents with chronic diseases that may affect the skeleton: the 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):281-94.
57. Crabtree NJ, Arabi A, Bachrach LK, Fewtrell M, El-Hajj Fuleihan G, Kecskemethy HH, et al. Dual-energy X-ray absorptiometry interpretation and reporting in children and adolescents: the revised 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):225-42.
58. Kalkwarf HJ, Abrams SA, DiMeglio LA, Koo WW, Specker BL, Weiler H, et al. Bone densitometry in infants and young children: the 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):243-57.
59. Zemel BS, Leonard MB, Kelly A, Lappe JM, Gilsanz V, Oberfield S, et al. Height adjustment in assessing dual energy x-ray absorptiometry measurements of bone mass and density in children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(3):1265-73.

60. Henwood MJ, Binkovitz L. Update on pediatric bone health. *J Am Osteopath Assoc.* 2009;109(1):5-12.
61. Schweser KM, Crist BD. Osteoporosis: a discussion on the past 5 years. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2017.
62. Bishop N, Arundel P, Clark E, Dimitri P, Farr J, Jones G, et al. Fracture prediction and the definition of osteoporosis in children and adolescents: the ISCD 2013 Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17(2):275-80.
63. Mukaka MM. Statistics corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Med J.* 2012;24(3):69-71.
64. Hill AB. The environment and disease: association or causation? 1965. *J R Soc Med.* 2015;108(1):32-7.
65. Hagenau T, Vest R, Gissel TN, Poulsen CS, Erlandsen M, Mosekilde L, et al. Global vitamin D levels in relation to age, gender, skin pigmentation and latitude: an ecologic meta-regression analysis. *Osteoporos Int.* 2009;20(1):133-40.
66. El-Khoury JM, Reineks EZ, Wang S. Progress of liquid chromatography-mass spectrometry in measurement of vitamin D metabolites and analogues. *Clin Biochem.* 2011;44(1):66-76.
67. Ong L, Saw S, Sahabdeen NB, Tey KT, Ho CS, Sethi SK. Current 25-hydroxyvitamin D assays: do they pass the test? *Clin Chim Acta.* 2012;413(13-14):1127-34.
68. Binkley N, Krueger D, Cowgill CS, Plum L, Lake E, Hansen KE, et al. Assay variation confounds the diagnosis of hypovitaminosis D: a call for standardization. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(7):3152-7.
69. Jongen MJ, van der Vijgh WJ, van Beresteyn EC, van den Berg H, Bosch R, Hoogenboezem T, et al. Interlaboratory variation of vitamin D(1) metabolite measurements. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1982;20(10):753-6.
70. Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(2):491S-9S.
71. Heaney RP, Holick MF. Why the IOM recommendations for vitamin D are deficient. *J Bone Miner Res.* 2011;26(3):455-7.
72. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1911-30.

73. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Guidelines for preventing and treating vitamin D deficiency and insufficiency revisited. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(4):1153-8.
74. Vieth R, Bischoff-Ferrari H, Boucher BJ, Dawson-Hughes B, Garland CF, Heaney RP, et al. The urgent need to recommend an intake of vitamin D that is effective. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(3):649-50.
75. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(1):53-8.
76. Munns CF, Shaw N, Kiely M, Specker BL, Thacher TD, Ozono K, et al. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(2):394-415.
77. Martinez AE, Allgrove J, Brain C. Growth and pubertal delay in patients with epidermolysis bullosa. *Dermatol Clin.* 2010;28(2):357-9, xii.
78. Sousa MC, Paula CD, Tauil PL, Costa IM. Correlation between nutritional, hematological and infectious characteristics and classification of the type of epidermolysis bullosa of patients assisted at the Dermatology Clinic of the Hospital Universitário de Brasília. *An Bras Dermatol.* 2015;90(6):922-4.
79. Reichlin S. Neuroendocrine-immune interactions. *N Engl J Med.* 1993;329(17):1246-53.
80. Dures E, Morris M, Gleeson K, Rumsey N. The psychosocial impact of epidermolysis bullosa. *Qual Health Res.* 2011;21(6):771-82.
81. Mellerio JE, Weiner M, Denyer JE, Pillay EI, Lucky AW, Bruckner A, et al. Medical management of epidermolysis bullosa: Proceedings of the IInd International Symposium on Epidermolysis Bullosa, Santiago, Chile, 2005. *Int J Dermatol.* 2007;46(8):795-800.
82. Pope E, Lara-Corrales I, Mellerio J, Martinez A, Schultz G, Burrell R, et al. A consensus approach to wound care in epidermolysis bullosa. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(5):904-17.
83. Ma J, Siminoski K, Alos N, Halton J, Ho J, Lentle B, et al. The choice of normative pediatric reference database changes spine bone mineral density Z-scores but not the relationship between bone mineral density and prevalent vertebral fractures. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(3):1018-27.

84. Mazocco L, Chagas P. Association between body mass index and osteoporosis in women from northwestern Rio Grande do Sul. *Rev Bras Reumatol Engl Ed.* 2017;57(4):299-305.
85. Viswanathan A, Sylvester FA. Chronic pediatric inflammatory diseases: effects on bone. *Rev Endocr Metab Disord.* 2008;9(2):107-22.
86. Paganelli M, Albanese C, Borrelli O, Civitelli F, Canitano N, Viola F, et al. Inflammation is the main determinant of low bone mineral density in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2007;13(4):416-23.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TCLE
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está convidado a participar do projeto: **Estudo das concentrações séricas dos marcadores inflamatórios interleucina 1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa em pacientes com epidermólise bolhosa hereditária e sua relação com a densidade mineral óssea**, de responsabilidade de Natália de Magalhães Alves, aluna de mestrado da Universidade de Brasília.

O nosso objetivo é verificar o grau de inflamação em pacientes com Epidermólise Bolhosa Hereditária (EBH) e sua relação com a fraqueza dos ossos nesses pacientes.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

Caso você concorde em participar, a coleta de dados será realizada por meio de entrevista com o paciente e consulta ao prontuário durante a consulta de rotina do mesmo, durando entre 30-50 min. O exame físico será realizado como de rotina por meio da avaliação da pressão, frequência cardíaca e respiratória, inspeção do corpo todo, além da ausculta do coração, do pulmão e palpação do abdome; durando cerca de 20 min, com o desconforto apenas decorrente da pressão leve exercida na palpação do abdome.

Serão colhidos dois a três frascos de sangue (4 ml cada) no mesmo momento da coleta de sangue para os exames de rotina da Epidermólise Bolhosa Hereditária (EBH), tendo duração de 1min ou menos e será realizada por profissional capacitado do próprio hospital (HUB), sem o uso de garrote para evitar danos decorrentes da pressão e do atrito sobre a pele. Os frascos serão encaminhados ao Centro de Pesquisa de Doenças Imunogenéticas e Crônicas Degenerativas da UnB (Laboratório Interdisciplinar de Biociências) onde serão realizados exames para detectar as substâncias no sangue que contribuem para a inflamação no corpo (IL-1, IL-6 e TNF- α), além dos outros exames laboratoriais de rotina. Esta pesquisa também avaliará se os ossos dos pacientes envolvidos estão fortes ou fracos por meio da realização de um exame chamado densitometria óssea, exame que faz parte da avaliação periódica dos pacientes com EBH e dura cerca de 5 minutos. Este exame não traz riscos para os pacientes envolvidos na pesquisa.

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são apenas relacionados à coleta de sangue, como dor leve durante a coleta e mancha roxa no local. Se você aceitar participar, estará contribuindo para maiores conhecimentos sobre a inflamação no corpo dos pacientes com EBH e sua relação com a fraqueza dos ossos.

O(a) Senhor(a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração.

Todas as despesas que você tiver relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa serão cobertas pelo pesquisador responsável.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, você poderá ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Endocrinologia pediátrica do HUB podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de cinco anos, após isso serão destruídos.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone, inclusive chamada a cobrar, para: Dra Natália Ribeiro de Magalhães Alves Tel: 996192681, (e-mail: natalia_med80@yahoo.com.br) no Hospital Universitário de Brasília.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidos pelo telefone (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Caso concorde em participar, pedimos que assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o Senhor(a).

Brasília ____ de _____ de _____

Nome / assinatura

Pesquisador Responsável
Nome e assinatura

APÊNDICE B – TCLE DE PAIS E RESPONSÁVEIS
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS
RESPONSÁVEIS LEGAIS DE PARTICIPANTES DA PESQUISA MENORES DE 18
ANOS**

Seu filho (ou a criança por quem o (a) senhora é responsável legal) está convidado a participar do projeto: **Estudo das concentrações séricas dos marcadores inflamatórios interleucina 1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa em pacientes com epidermólise bolhosa hereditária e sua relação com a densidade mineral óssea**, de responsabilidade de Natália de Magalhães Alves, aluna de mestrado da Universidade de Brasília.

O nosso objetivo é verificar o grau de inflamação em pacientes com Epidermólise Bolhosa Hereditária (EBH) e sua relação com a fraqueza dos ossos nesses pacientes.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome ou o da criança não aparecerão sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-los(as).

Caso você concorde com a participação, a coleta de dados será realizada por meio de entrevista com o paciente e seus responsáveis, e consulta ao prontuário durante a consulta de rotina do mesmo, durando entre 30-50 min. O exame físico será realizado como de rotina por meio da avaliação da pressão, frequência cardíaca e respiratória, inspeção do corpo todo, além da ausculta do coração, do pulmão e palpação do abdome; durando cerca de 20 min, com o desconforto apenas decorrente da pressão leve exercida na palpação do abdome.

Serão colhidos dois frascos de sangue (4 ml cada) no mesmo momento da coleta de sangue para os exames de rotina da Epidermólise Bolhosa Hereditária (EBH), tendo duração de 1min ou menos e será realizada por profissional capacitado do próprio hospital (HUB), sem o uso de garrote para evitar danos decorrentes da pressão e do atrito sobre a pele. Os frascos serão encaminhados ao Centro de Pesquisa de Doenças Imunogenéticas e Crônico Degenerativas da UnB (Laboratório Interdisciplinar de Biociências) onde serão realizados exames para detectar as substâncias no sangue que contribuem para a inflamação no corpo (IL-1, IL-6 e TNF- α), além dos outros exames laboratoriais de rotina. Esta pesquisa também avaliará se os ossos dos pacientes envolvidos estão fortes ou fracos por meio da realização de um exame chamado densitometria óssea, exame que faz parte da avaliação periódica dos pacientes com EBH e dura cerca de 5 minutos. Este exame não traz riscos para os pacientes envolvidos na pesquisa.

Os riscos decorrentes da participação na pesquisa são apenas relacionados à coleta de sangue, como dor leve durante a coleta e mancha roxa no local. Se você aceitar que a criança participe, estará contribuindo para maiores conhecimentos sobre a inflamação no corpo dos pacientes com EBH e sua relação com a fraqueza dos ossos.

O(a) Senhor(a) e a criança podem se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que traga constrangimento ao (a) senhor (a) ou à criança, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para os dois. A participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração.

Todas as despesas que você tiver relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa serão cobertas pelo pesquisador responsável.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente da participação na pesquisa, você poderá ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Endocrinologia pediátrica do HUB podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de cinco anos, após isso serão destruídos.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone, inclusive chamada a cobrar, para: Dra Natália Ribeiro de Magalhães Alves Tel: 96192681, (e-mail: natalia_med80@yahoo.com.br) no Hospital Universitário de Brasília.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidos pelo telefone (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Caso concorde com a participação da criança pela qual o(a) senhor(a) é responsável, pedimos que assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o Senhor(a).

Brasília ____ de _____ de _____

Nome / assinatura

Pesquisador Responsável
Nome e assinatura

APÊNDICE C – TERMO DE ASSENTIMENTO PARA CRIANÇAS (6-9 ANOS)

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Termo de assentimento para crianças (6 a 9 anos)

Mesmo que você escreva o seu nome aqui, seus pais também precisam assinar o papel deles.

Você está sendo convidado para participar dessa pesquisa com esse nome estranho: **Estudo das concentrações séricas dos marcadores inflamatórios interleucina 1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa em pacientes com epidermólise bolhosa hereditária (EBH) e sua relação com a densidade mineral óssea**. Seus pais deixaram você participar.

Queremos saber se você tem bichinhos no seu sangue que deixam os seus ossos fraquinhos.

As crianças de várias idades podem participar, só não pode ter menos que 6 anos. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, não tem nenhum problema se desistir também.

A pesquisa será feita no hospital que seus pais sempre te levam, onde as crianças como você vão participar da consulta de rotina e o médico vai perguntar várias coisas sobre a sua saúde. O tio ou a tia vai te examinar e ver se está tudo bem com a sua pele, boca, ver se a pressão está boa, se você está crescendo e se seu coração, pulmão e barriga estão bem. A consulta demora só um pouquinho a mais do que as que você sempre vem.

As crianças que quiserem participar da pesquisa também deixarão tirar um pouco de sangue (dois tubinhos) na mesma hora em que a tia for tirar o sangue para os outros exames que você já faz todo ano. Olha como é:



Figura 1

Fonte: <https://www.youtube.com/watch?v=ya9cEU5-7Qs>

A tia que tira o sangue é muito boa e está acostumada a tirar sangue de pessoas com a pele igual a sua, mesmo em crianças bem menores que você. Ela é bem rápida e tira o sangue em 1 min ou menos, sem usar aquela cordinha que aperta o braço para não te machucar. Quando ela estiver tirando o sangue você poderá sentir um pouco de dor, que passa logo como das outras

vezes que você precisou tirar sangue. Em alguns casos pode aparecer uma mancha roxa no local que ela furou a pele, mas a mancha sumirá sozinha com o tempo.

Outro exame que as crianças da pesquisa vão fazer é a densitometria óssea, que é um exame que você já está acostumado a fazer todo ano para saber se seus ossos estão fortes ou fracos. Você só precisa ficar deitado numa cama sem se mexer enquanto faz o exame, que dura só 5 min e não te machuca. Parece com a figurinha. Veja:



Figura 2

Fonte: <http://www.cedeco.com.br>

Se acontecer algum problema, você pode pedir para mamãe nos ligar (96192681), pode ser chamada a cobrar, e falar o que aconteceu para a Natália.

Os exames serão feitos na mesma hora dos outros exames que você já está acostumado. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, é segredo. Os resultados da pesquisa vão aparecer nas revistas dos médicos, mas ninguém vai saber quem são as crianças que participaram.

Quando terminarmos a pesquisa, seus pais e você vão saber os resultados, que a gente vai deixar na sala onde você sempre é atendido.

Se você não entender alguma coisa, você pode me perguntar. Eu escrevi o telefone na parte de cima deste texto.

Eu _____ aceito participar da pesquisa **Estudo das concentrações séricas dos marcadores inflamatórios interleucina 1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa em pacientes com epidermólise bolhosa hereditária e sua relação com a densidade mineral óssea.**

Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas se não quiser mais, posso dizer “não” e desistir e que ninguém vai ficar furioso.

Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus pais.

Recebi uma folha igual a essa pra ficar comigo, li e concordo em participar da pesquisa.

Brasília, _____ de _____ de _____

Assinatura do menor

Assinatura do(a) pesquisador(a)

APÊNDICE D – TERMO DE ASSENTIMENTO PARA CRIANÇAS (10-12 ANOS)

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Termo de assentimento para crianças (10 a 12 anos)

O termo de assentimento não elimina a necessidade de fazer o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) que deve ser assinado pelo responsável ou representante legal do menor de 18 anos ou legalmente incapaz.

Você está sendo convidado para participar da pesquisa **Estudo das concentrações séricas dos marcadores inflamatórios interleucina 1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa em pacientes com epidermólise bolhosa hereditária (EBH) e sua relação com a densidade mineral óssea**. Seus pais permitiram que você participe.

Queremos saber se você tem aumento de algumas coisas no seu sangue (essas com nome estranho aí em cima) que podem deixar seus ossos mais fracos.

As crianças e adolescentes que irão participar desta pesquisa têm de 6 a 18 anos de idade. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu e não terá nenhum problema se desistir.

A pesquisa será feita no Hospital Universitário de Brasília (HuB), onde os pacientes como você vão participar da consulta de rotina, onde o médico vai perguntar várias coisas sobre a sua saúde. Também será realizado o exame físico igual ao que é feito todo ano, o médico vai te examinar e ver se está tudo bem com a sua pele, boca, ver se a pressão está boa, avaliar seu crescimento e se seu coração, pulmão e barriga estão bem. A consulta demora só um pouquinho a mais do que as que você sempre vem.

As crianças que quiserem participar da pesquisa também deixarão tirar um pouco de sangue (dois tubinhos) no mesmo momento em que a enfermeira for tirar o sangue para os outros exames que são feitos todo ano (Figura 1).



Figura 1

Fonte: <https://www.youtube.com/watch?v=ya9cEU5-7Qs>

A enfermeira que tira o sangue é treinada e está acostumada a coletar exames de pessoas com a pele como a sua, mesmo em crianças bem menores que você. Ela é bem rápida e tira o sangue em 1 min ou menos, sem usar aquela cordinha que aperta o braço para não te machucar.

Quando ela estiver tirando o sangue você poderá sentir um pouco de dor, que passa logo como das outras vezes que você precisou tirar sangue. Em alguns casos pode aparecer uma mancha roxa no local que ela furou a pele, mas a mancha sumirá sozinha com o tempo.

Outro exame que será avaliado é a densitometria óssea, que é um exame que você está acostumado a fazer para saber se seus ossos estão fortes ou fracos. Você só precisa ficar deitado sem se mexer enquanto faz o exame, que dura só 5 min e não te machuca (Figura 2).



Figura 2

Fonte: <http://www.cedeco.com.br>

Se acontecer algum problema, você pode nos ligar (96192681), pode ser chamada a cobrar, e falar o que aconteceu para a Dra Natália.

Os exames serão feitos na mesma hora dos outros exames que você já está acostumado. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas ninguém vai saber quem são as crianças e adolescentes que participaram.

Quando terminarmos a pesquisa, seus pais e você vão saber os resultados, que a gente vai deixar na sala onde você sempre é atendido.

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi o telefone na parte de cima deste texto.

Eu _____ aceito participar da pesquisa **Estudo das concentrações séricas dos marcadores inflamatórios interleucina 1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa em pacientes com epidermólise bolhosa hereditária e sua relação com a densidade mineral óssea.**

Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir e que ninguém vai ficar furioso.

Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis.

Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Brasília, _____ de _____ de _____

Assinatura do menor

Assinatura do(a) pesquisador(a)

APÊNDICE E – TERMO DE ASSENTIMENTO PARA ADOLESCENTES

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Termo de assentimento para adolescente (13 a 18 anos)

O termo de assentimento não elimina a necessidade de fazer o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) que deve ser assinado pelo responsável ou representante legal do menor de 18 anos ou legalmente incapaz.

Você está sendo convidado para participar da pesquisa **Estudo das concentrações séricas dos marcadores inflamatórios interleucina 1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa em pacientes com epidermólise bolhosa hereditária (EBH) e sua relação com a densidade mineral óssea**. Seus pais permitiram que você participe.

Queremos saber se você tem alterações no seu sangue (aumento dessas substâncias que eu citei acima) que podem deixar seus ossos mais fracos.

As crianças e adolescentes que irão participar desta pesquisa têm de 6 a 18 anos de idade. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu e não terá nenhum problema se desistir.

A pesquisa será feita no Hospital Universitário de Brasília (HuB), onde os pacientes com EBH vão participar da consulta de rotina, onde também será realizado o exame físico igual ao que é feito todo ano para examinar a pele e as mucosas, ver se a pressão está boa, avaliar seu crescimento e se seu coração, pulmão e abdome estão bem. A consulta demora em torno de 50-60 min.

Os pacientes participantes da pesquisa também deixarão tirar um pouco de sangue (dois tubinhos) no mesmo momento da coleta de sangue para os exames laboratoriais de rotina que são realizados todo ano (Figura 1).



Figura 1

Fonte: <http://artriterumatoide.blog.br/2016/03/15/exame-de-sangue>

A profissional que fará essa coleta é treinada e está acostumada a coletar exames de pessoas com EBH, mesmo em crianças pequenas; com duração de 1 min ou menos e sem a utilização de garrote (a borracha que aperta o braço) para evitar pressão e atrito com a sua pele. Durante a coleta pode ser que você sinta um pouco de dor, que passa logo como em qualquer coleta de sangue. Em alguns casos pode aparecer uma mancha roxa no local da coleta que sumirá sozinha com o tempo.

Outro exame que será avaliado é a densitometria óssea, que é um exame que você já faz de rotina para saber se seus ossos estão fortes ou fracos. Você só precisa ficar deitado sem se mexer enquanto faz o exame, que dura cerca de 5 min e não traz riscos para você (Figura 2)



Figura 2

Fonte: <http://www.cedeco.com.br>

Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar pelo telefone (96192681), inclusive chamada a cobrar, da pesquisadora Natália R. M. Alves.

Os exames serão feitos na mesma hora dos outros exames que você já está acostumado. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças e adolescentes que participaram.

Quando terminarmos a pesquisa, seus pais e você vão saber os resultados, que a gente vai deixar na sala onde você sempre é atendido.

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi o telefone na parte de cima deste texto.

Eu _____ aceito participar da pesquisa **Estudo das concentrações séricas dos marcadores inflamatórios interleucina 1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa em pacientes com epidermólise bolhosa hereditária e sua relação com a densidade mineral óssea.**

Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir e que ninguém vai ficar furioso.

Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis.

Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Brasília, _____ de _____ de _____

Assinatura do menor

Assinatura do(a) pesquisador(a)

APÊNDICE F - PROTOCOLO DE PESQUISA

ESTUDO DE PARÂMETROS CLÍNICOS E METABÓLICOS EM PACIENTES COM EPIDERMÓLISE BOLHOSA HEREDITÁRIA E SUA RELAÇÃO COM A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA

PRONTUÁRIO: _____

NOME: _____

NOME DA MÃE: _____

IDADE: _____ SEXO: FEM MASC DN: / /

PESO: _____ ALTURA: _____ IMC: _____ Tanner: _____

TELEFONES: _____

TIPO DE EPIDERMÓLISE: _____

USO DE VIT D, CÁLCIO, BISFOSFONATOS, AINES OU CORTICOSTERÓIDES,
ANTIFÚNGICOS, ANTICONVULSIVANTES ? _____

ALGUMA DOENÇA INFLAMATÓRIA CONCOMITANTE? QUAL? FRATURAS?
HISTÓRIA FAMILIAR?

MOBILIDADE:

0. Deambula sem restrições

1. Deambula com restrições

DENSITOMETRIA ÓSSEA:

DATA:

Z-SCORE:

- COLUNA LOMBAR:
- CORPO TOTAL:
- FÊMUR:

EXAMES	DATA	RESULTADOS
HEMOGRAMA		
URÉIA/CREATININA		
ALBUMINA/ GLOBULINA		
AST/ALT		
GGT		
BT/BD		
PCR		
IL-6		
Ca		
P		
Mg		
FAI		
VIT D (25 OHD)		
PTH		
FE/ FERRITINA		

ANEXOS

ANEXO A – CONTRATO DE PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS DO LABORATÓRIO SABIN (página 1 de 3)

Contrato: NAP20170323253

CONTRATO DE PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS LABORATORIAIS

Contrato de prestação de serviços laboratoriais (análises e pesquisas clínicas em geral) que entre si fazem, de um lado como **CONTRATANTE** Luiz Cláudio Gonçalves de Castro; CRM 11.105 DF; 313.845.011-34; do outro lado como **CONTRATADO** o Laboratório Sabin de Análises Clínicas Ltda, com sede ST SAAN Quadra 03, n.º 165, Lote 245, Zona Industrial, Brasília – DF, CEP: 70.632-300; CNPJ: 00.718.528/0102-44. Inscrição Estadual: 07.305.368/077-08, fone: (61) 3329-8000, mediante as seguintes cláusulas e condições:

Cláusula Primeira - O presente contrato tem por objeto a prestação de serviços laboratoriais (Análises e Pesquisas Clínicas em Geral) à pesquisadora Natália Ribeiro de Magalhães Alves; RG: 2.353.313 SSP/DF; CPF: 016.910.831-78, referente ao projeto de pesquisa intitulado "ESTUDO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS INTERLEUCINA 1, INTERLEUCINA 6 E FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA EM PACIENTES COM EPIDERMÓLISE BOLHOSA HEREDITÁRIA E SUA RELAÇÃO COM A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA".

Cláusula Segunda – O contratado fornecerá orientações técnicas, insumos, metodologias, equipamentos e tecnologia disponível, para a realização de ensaios e pesquisas clínicas (procedimento laboratorial).

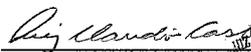
Cláusula Terceira – O contratado informa que poderão ocorrer alterações nos valores de referência, mudanças de metodologia e interferentes pré-analíticos (exemplo: amostra insuficiente, coágulo, hemólise) ou por fatores associados à mudança de fornecedores, reagentes ou equipamentos em uso, conforme necessidade do laboratório, sem aviso prévio.

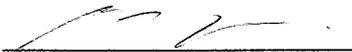
ANEXO A – CONTRATO DE PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS DO LABORATÓRIO SABIN (página 2 de 3)

Contrato: NAP20170323253

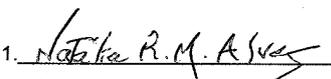
Assim, justas e contratadas, as partes firmam o presente instrumento, juntamente com duas testemunhas e em duas vias de igual forma e teor.

Brasília-DF, 18 de abril de 2017


Luiz Cláudio Gonçalves de Castro
CPF: 313.845.011-34


Laboratório Sabin de Análises Clínicas
CNPJ: 00.718.528/0001-09

Testemunhas:

1. 
Natália Ribeiro de Magalhães Alves
CPF: 016.910.831-78

2. 
Simone Souza Lima
CPF: 005.605.561-79



**ANEXO A – CONTRATO DE PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS DO
LABORATÓRIO SABIN (página 3 de 3)**

TABELA ORÇAMENTÁRIA

"ESTUDO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS INTERLEUCINA 1, INTERLEUCINA 6 E FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA EM PACIENTES COM EPIDERMÓLISE BOLHOSA HEREDITÁRIA E SUA RELAÇÃO COM A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA"

Contrato: NAP20170323253

Convênio: Núcleo de Apoio a Pesquisa				
<i>Código do exame</i>	<i>Nome do Exame</i>	<i>Quantidade</i>	<i>Valor unitário</i>	<i>Valor total</i>
INTER1	INTERLEUCINA 1 – BETA	09	Sem custo para o pesquisador	Instituto Sabin
INTER6	INTERLEUCINA 6	09	Sem custo para o pesquisador	Instituto Sabin
TNF	FATOR NECROSE TUMORAL (TNF)	09	Sem custo para o pesquisador	Instituto Sabin
TOTAL GERAL				Instituto Sabin

ANEXO B – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FS-UNB

**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - CEP/FS-UNB**

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: ESTUDO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS INTERLEUCINA 1, INTERLEUCINA 6 E FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA EM PACIENTES COM EPIDERMÓLISE BOLHOSA HEREDITÁRIA E SUA RELAÇÃO COM A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA

Pesquisador: NATÁLIA RIBEIRO DE MAGALHÃES ALVES **Área Temática:** Versão: 3CAAE: 55934816.0.0000.0030

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília **Patrocinador Principal:** FUNDACAO UNIVERSIDADE DE BRASILIA

DADOS DO PARECER Número do Parecer: 1.623.464

Apresentação do Projeto:

“ A Epidermólise Bolhosa Hereditária (EBH) é uma dermatose mecano-bolhosa rara 1:50.000), que comporta um grupo heterogêneo de apresentações. Nas suas formas mais extensas cursa com complicações sistêmicas gastrointestinais, cardíacas, renais, infecciosas, ósseas, entre outras. Estudos anteriores demonstraram que pacientes com EBH apresentam baixa densidade mineral óssea, principalmente em suas formas generalizadas, com causa multifatorial. Estudos pequenos também relataram aumento dos níveis sérios de interleucina-6 (IL-6), uma interleucina osteoclastogênica, nesses pacientes.

Diante destas informações buscamos avaliar os níveis séricos de marcadores inflamatórios osteoclastogênicos (IL-6, IL-1 e Fator de necrose tumoral- alfa) e correlacioná-los com a densidade mineral óssea nesses pacientes".

“Hipótese: “Níveis elevados de marcadores inflamatórios osteoclastogênicos (IL-1,IL,6 e TNF-alfa) podem ter relação com a baixa densidade mineral óssea nos pacientes com Epidermólise Bolhosa Hereditária.”

Metodologia Proposta:

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte**UF:** DF**Telefone:** (61)3107-1947

CEP: 70.910-900**E-mail:** cepfsunb@gmail.com

Município: BRASILIA



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - CEP/FS-UNB



Continuação do Parecer: 1.623.464

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 05 de Julho de 2016

Assinado por:

Keila Elizabeth Fontana (Coordenador)

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte **UF:** DF **Telefone:** (61)3107-1947

CEP: 70.910-900 **E-mail:** cepfsunb@gmail.com

Município: BRASILIA

ANEXO C – AUTORIZAÇÃO PARA DIVULGAÇÃO DE IMAGEM EM MEIOS CIENTÍFICOS

 Universidade de Brasília

AUTORIZAÇÃO PARA DIVULGAÇÃO DE IMAGEM EM MEIOS CIENTÍFICOS

Eu, _____,
portador(a) do documento de identidade nº _____, responsável
legal pelo(a) menor _____,
acompanhado no Hospital Universitário de Brasília, autorizo a divulgação de
imagens e fotos

- () minhas

- () dele (dela)

com objetivo de serem utilizadas como dados médicos em documentos e
artigos exclusivamente de caráter científico.

Estou ciente que esta autorização pode ser retirada a qualquer momento
através da minha solicitação por escrito, sem qualquer comprometimento do
acompanhamento

- () meu

- () do(a) menor sob minha responsabilidade.

Brasília – DF, ___/___/___

Assinatura:

Área da Medicina da Criança e do Adolescente
Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília
Campus Universitário Darcy Ribeiro
70910-900 Brasília - DF