

ROBERTO RÉGIS RIBEIRO

**QUANTIDADE E QUALIDADE ÓSSEA AVALIADA PELA
ULTRASSONOGRAFIA DE FALANGES EM CRIANÇAS
BRANCAS E NEGRAS DE SEIS A ONZE ANOS DE IDADE**

CAMPINAS

Unicamp

2009

ROBERTO RÉGIS RIBEIRO

**QUANTIDADE E QUALIDADE ÓSSEA AVALIADA PELA
ULTRASSONOGRAFIA DE FALANGES EM CRIANÇAS
BRANCAS E NEGRAS DE SEIS A ONZE ANOS DE IDADE**

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de
Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente, área de
concentração em Saúde da Criança e do Adolescente.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio de Azevedo Barros Filho

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Gil Guerra Junior

CAMPINAS

Unicamp

2009

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

R484q	Ribeiro, Roberto Régis Quantidade e qualidade óssea avaliada pela ultrassonografia de falanges em crianças brancas e negras de seis a onze anos de idade / Roberto Régis Ribeiro. Campinas, SP : [s.n.], 2009. Orientadores : Antonio de Azevedo Barros Filho, Gil guerra Júnior Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. 1. Escolares. 2. Densidade óssea. 3. Ultra - sonografia. 4. Etnologia. 5. Falange dos dedos da mão. I. Barros Filho, Antonio de Azevedo. II. Guerra Júnior, Gil. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.
-------	--

Título em inglês : Bone quantity and quality assessed by ultrasound of phalanges in black and White children's six to eleven years old

Keywords: • Schoolchildren
• Bone density
• Ultrasonography
• Ethnology
• Finger phalanges

Titulação: Doutor em Saúde da criança e do Adolescente
Área de concentração: Saúde da criança e do Adolescente

Banca examinadora:

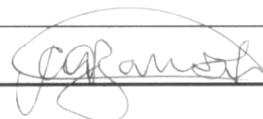
Prof. Dr. Antonio de Azevedo Barros Filho
Profa. Dra. Claudia Cezar
Prof. Dr. Odilon Iannetta
Profa. Dra. Lília Freire Rodrigues de Souza Li
Prof. Dr. Eduardo Tavares Costa

Data da defesa: 10-02-2009

Banca Examinadora da Tese de Doutorado

Orientador:

Prof. Dr. Antonio de Azevedo Barros Filho



Membros:

1. Prof.(a) Dr.(a) Claudia Cezar de Sousa

2. Prof. Dr. Odilon Iannetta

3. Prof.(a) Dr.(a) Lilia Freire Rodrigues de Souza Li

2. Prof. Dr. Eduardo Tavares Costa

Curso de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: Fevereiro/2009

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho às pessoas que foram as principais responsáveis por mais esta vitória:

*Ao meu pai **João** e minha mãe **Luzia**, que sempre me incentivaram em perseguir os meus objetivos;*

*A minha esposa **Keila**, dedico a você este trabalho, pela sua compreensão, carinho, amizade, companheirismo além de outras qualidades que a você pertence.*

AGRADECIMENTOS

Desde o início do doutoramento, contei com a confiança e o apoio de inúmeras pessoas, sem as quais esta investigação não teria sido possível.

Aos meus familiares, que sempre estiveram ao meu lado, incentivando e orientando os meus passos e torcendo muito pelo meu sucesso. Além de me acolher, nos momentos mais difíceis da minha vida.

A minha esposa, por compreender e aceitar a minha dedicação nesse estudo, como também por estar sempre torcendo pelas minhas vitórias.

Ao Prof. Dr. Antonio Azevedo de Barros Filho, meu orientador, pelo voto de confiança, pela fundamental contribuição no meu crescimento enquanto pesquisador.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Gil Guerra Junior, que demonstra competência e entusiasmo pela pesquisa científica, pela contribuição no desenvolvimento do meu espírito crítico na pesquisa, pela cordial receptividade e por acreditar na minha capacidade.

Aos membros da banca Profa. Dra. Claudia Cezar, Prof. Dr. Odilon Iannetta, Profa. Dra. Lília Freire Rodrigues de Souza Li, Prof. Dr. Eduardo Tavares Costa, Prof. Dr. José Espin Neto e Profa. Dra. Angélica Maria Bicudo Zeferino por terem aceitado participar da minha defesa, com valiosas contribuições e sugestões na redação final deste estudo.

A Simone e Tathiane, pela amizade, por sempre estarem disponíveis para ajudarem nas minhas solicitações.

Aos “velhos” e “novos” amigos conquistados, pelo privilégio da convivência com pessoas tão especiais.

À Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Ciências Médicas pela minha formação na docência e na pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelos recursos necessários para o aperfeiçoamento de minha formação.

Há muito mais a quem agradecer... A todos aqueles que, embora não nomeados, me brindaram com seu inestimável apoio em distintos momentos e por suas presenças afetivas inesquecíveis, o meu reconhecido e carinhoso **muito obrigado!!!**

“Certeza !

.... De tudo, ficaram três coisas:

A certeza de que estamos sempre começando...

A certeza de que precisamos continuar...

A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar...

Portanto devemos:

Fazer da interrupção um caminho novo...

Da queda, um passo de dança...

Do medo, uma escada...

Do sonho, uma ponte...

Da procura, um encontro...”.

Fernando Pessoa

Estruturação da tese: O presente estudo optou pelo “Modelo Escandinavo”, o qual é chamado de “Modelo Alternativo” no Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Sendo assim, a tese foi composta por introdução, objetivos, capítulos (I e II) e conclusão geral. A introdução apresentou os principais estudos sobre massa óssea e da técnica de avaliação deste tecido por meio da ultrassonografia de falange. No capítulo I e II encontram-se os artigos que foram redigidos segundo as normas específicas de cada periódico a que foram submetidos. Na conclusão geral foram apresentadas as principais conclusões dos dois artigos. As referências bibliográficas foram apresentadas no final de cada capítulo e da tese. A seguir, foram apresentadas as principais informações que se referem à estruturação dos dois capítulos da tese. **Objetivo:** avaliar a quantidade e qualidade óssea, por meio de ultrassonografia das falanges, em escolares saudáveis, brancos e negros, em relação ao nível socioeconômico e composição corporal, e ainda comparar a quantidade óssea com referências européias. **Materiais e Métodos:** participaram do estudo 1.356 escolares saudáveis de diferentes níveis socioeconômicos, divididos em brancos e negros com idades de seis a onze anos, de ambos os gêneros. Por métodos antropométricos foram avaliados o peso e a estatura e calculados o percentual de gordura, massa gorda, massa magra e índice de massa corporal, que foi transformado em escore z para idade. Para definir os desvios de normalidade foram adotados como pontos de corte valores abaixo de -2 e acima de +2 dos valores do escore z. Para o procedimento de coleta das medidas individuais do parâmetro de quantidade óssea (AD-SoS = *Amplitude Dependent of Speed Sound*) e qualidade óssea (UBPI = *Ultrasound Bone Profile Index*) utilizou-se o ultra-som nas falanges com o aparelho DBM Sonic® BP, IGEA, de 3ª geração. Os valores médios de AD-SoS deste estudo foram comparados a cinco referências européias que apresentam valores normativos para crianças e adolescentes. Foi realizada a análise descritiva dos dados, e para a comparação da idade, dos gêneros e das cores da pele com as variáveis AD-SoS e UBPI, utilizou-se a análise de variância (ANOVA - *two way*) seguida pelo teste de comparações múltiplas de *Tukey* ($p < 0,05$). Aplicaram-se ainda os testes Mann-Whitney,

qui-quadrado, coeficiente de correlação e análise de regressão linear múltipla com significância de 5%. Para a comparação da AD-SoS dos escolares, de ambos os gêneros e cores de pele em relação às referências, recorreu-se ao teste t *Student*, que compara duas médias, sendo uma delas a referência. **Resultados:** Os escolares negros predominaram nos níveis socioeconômicos baixos. Os meninos negros apresentaram valores superiores no peso e estatura, enquanto as meninas negras na massa magra, em relação aos escolares brancos do mesmo gênero e idade. Observou-se variação crescente dos seis aos onze anos para ambos os gêneros e cor da pele nas médias de AD-SoS. Os brancos apresentaram valores superiores de AD-SoS e UBPI em relação aos negros. As variáveis antropométricas, gênero e nível socioeconômico explicaram apenas 17 e 11% da variabilidade de AD-SoS e UBPI, respectivamente. Comparando a AD-SoS deste estudo com as cinco referências européias, observou-se para ambos os gêneros e cores de pele valores inferiores ao estudo polonês e semelhante aos demais para as meninas, enquanto que os meninos apresentaram valores semelhantes aos estudos italianos e inferiores ao espanhol. **Conclusão:** Sendo assim, o presente estudo, apresentou massa óssea, avaliada por ultrassonografia das falanges, maior nos brancos que nos negros. A quantidade óssea dos escolares deste estudo aumentou dos seis aos onze anos de idade para ambos os gêneros e cores da pele. A quantidade óssea encontrada nas crianças brasileiras de ambos os gêneros e cores de pele foi inferior em relação aos poloneses, semelhante aos italianos; e em relação ao estudo espanhol, os gêneros não apresentaram uniformidades, sendo as meninas semelhantes e os meninos com valores inferiores.

Palavras-chave: osteossonometria, massa óssea, etnologia, falanges, escolares.

Thesis Structuring: The present study opted for the “Scandinavian Model” which is called the “Alternative Model” in the Post-Graduation Program in Child and Adolescent Health from the Medical Sciences College of University of Campinas (UNICAMP). Therefore, the thesis was compounded by introduction, objective, chapters (I and II) and general conclusion. The introduction presented the main studies on bone mass and the evaluation technique of this tissue by the use of phalanx ultrasound. The articles that were written according to the specific norms of each journal to which they were submitted to are found on chapters I and II. On the general conclusion the main conclusions of both articles were presented. The bibliographical references were presented at the end of each chapter and of the thesis. Further, the main information about the structuring of both chapters of the thesis was presented. **Objective:** to evaluate the bone quantity and quality, by phalanxes ultrasound, in healthy, black and white, schoolchildren, in relation to the socioeconomic level and body composition, and still, to compare the bone quantity to European references. **Materials and Methods:** 1,356 healthy schoolchildren from different socioeconomic level participated on this study, divided into black and white with ages from six to eleven years old, from both genders. The weight and height were evaluated by anthropometric methods as well as the percentage of fat, fat mass, lean mass and body mass index, which was transformed in score z for the age, were calculated. To define the normality deviations it was adopted, as cut points, values below -2 and above +2 from the values of the score z. For the procedure of collecting the individual data of the bone quantity parameter (AD-SoS = Amplitude Dependent of Speed Sound) and bone quality (UBPI = Ultrasound Bone Profile Index) it was used the ultrasound on the phalanxes with the 3rd generation DBM Sonic[®] BP, IGEA device. The average values of AD-SoS from this study were compared to five European references that presented normative values for children as well as for adolescents. The descriptive analysis of the data was realized, and for the age, genders and skin colors comparison with the variables AD-SoS and UBPI, the variance analysis was used (ANOVA – two way) followed by the test of multiple comparisons of Tukey ($p < 0,05$). The Mann-Whitney, qui-squared, correlation coefficient and multiple

linear regression analysis with 5% significance were also applied. For the comparison of AD-SoS of the schoolchildren, from both genders and skin colors in relation to the references, the t Student, that compares two averages, being one of them the reference, was chosen. **Results:** the black schoolchildren predominated on the low socio-economic levels. The black boys presented higher values for weight and height, while the black girls for lean mass, in relation to white schoolchildren from the same age and gender. It was observed a crescent variation from six to eleven years of age for both genders and color of skin in the averages of AD-SoS. The white schoolchildren presented higher values of AD-SoS and UBPI in relation to the black ones. The anthropometric variables, gender and socio-economic level explained only 17 and 11% of the variability of AD-SoS and UBPI, respectively. Comparing the AD-SoS from this study to the five European references, it was observed for both genders and colors of skin lower values than to the Polish study and similar to the other studies for the girls, while the boys presented similar values to the Italian studies and lower than the Spanish ones. This way, the present study, presented higher bone mass, evaluated by phalanxes ultrasound, in white schoolchildren than in black ones. The bone quantity of the schoolchildren from this study rose from the six to the eleven years of age for both genders and colors of skin. The bone quantity found in Brazilian children from both genders and colors of skin was lower in relation to the Polish, similar to the Italians; and in relation to the Spanish study, the genders didn't present uniformities, being the girls similar and the boys with lower values.

Key-words: osteosonometry, bone mass, ethnology, phalanxes, schoolchildren.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AD-SoS	Amplitude Dependent Speed of Sound
ANEP	Agência Nacional de Empresas de Pesquisa
BMI	Body Mass Index
BP	Bone Profile
BTT	Bone Transmission Time
BUA	Broadband Ultrasound Attenuation
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
Cm	Centimeters
CMO	Conteúdo Mineral Ósseo
DBM	Density Bone Mineral
DEXA	Dual Energy X Ray Absorptiometry
DMO	Densidade Mineral Óssea
DP	Desvio Padrão
DPA	Dual Photon Absorptiometry
DXR	Digital X-ray Radiogrammetry
FM	Fat Mass
FSH	Follicle Stimulating Hormone
FWA	Fast Wave Amplitude
g/cm^2	Grama por Centímetro Quadrado
g/cm^3	Grama por Centímetro Cúbico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INEP	Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais
Kg	Quilograma
Kg/m ²	Quilograma por Metro Quadrado
kHz	Kilohertz
LH	Luteinizing Hormone
LM	Lean Mass
M	Mean
m/s	Metros por Segundo
m ²	Metro ao Quadrado
mg/cm ³	Miligramas por Centímetro Cúbico
MHz	Mega Hertz
mm	Milímetros
mm ²	Milímetros ao Quadrado
mV	Milivolt
mV/μsec ²	Milivolt por Microsegundo ao Quadrado
NCHS	National Center for Health Statistics
pQCT	Peripheral Quantitative Computed Tomography
QCT	Quantitative Computed Tomography
QUS	Quantitative Ultrasound
SD	Standard Deviation
SDy	Signal Dynamic
SPA	Single Photon Absorptiometry
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SHS	Single Health System

SXA	Single X Ray Absorptiometry
UBPI	Ultrasound Bone Profile Index
UFSC	Federal University of Santa Catarina
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
WHO	World Health Organization
χ^2	Qui-quadrado
%F	Fat Percentage
Σ DO	Sum of the Bone Diameters
μ	Micro

CAPÍTULO I

Table 1-	Data for age, weight, height, sum of the bone diameters, body mass index, fat percentage, fat and lean mass, according to gender and color of skin.....	51
Table 2-	Data for AD-SoS bone quantity according to age, gender and skin color.....	52
Table 3-	Data for UBPI bone quality according to age, gender and skin color.....	53
Table 4-	Correlation coefficient between AD-SoS quantity and UBPI bone quality in relation to the weight, height, sum of bone diameters Σ DO, BMI, % fat, fat mass, lean mass, age, gender, socioeconomic level and skin color.....	54

CAPÍTULO II

Table 1-	Mean (M) and standard deviation (SD) of bone quantity (AD-SoS) according to age, gender and skin color of the schoolchildren.....	71
-----------------	---	----

INTRODUÇÃO

Figura 1- Equipamento DBM Sonic BP, IGEA, de 3 ^a geração, e posicionamento da mão para avaliação.....	25
Figura 2- Perfil Biofísico Ósseo.....	26
Figura 3- Cortes Sonotomográficos.....	27

CAPÍTULO II

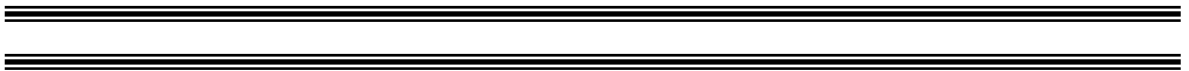
Figure 1- Means of bone quantity (AD-SoS) of the female schoolchildren from 6 to 11 years old for both skin colors and of the 5 references.....	72
Figure 2- Means of bone quantity (AD-SoS) of the male schoolchildren from 6 to 11 years olds for both skin colors and of the five references.....	73

CAPÍTULO II

Chart 1- Mean values of bone quantity (AD-SoS) of references, for the ages of interest in this study.....	70
---	----

	PÁG.
RESUMO.....	<i>vii</i>
ABSTRACT.....	<i>ix</i>
INTRODUÇÃO GERAL.....	18
OBJETIVOS.....	31
CAPÍTULOS.....	33
Capítulo I.....	34
Capítulo II.....	55
CONCLUSÃO GERAL.....	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
ANEXOS.....	88
Anexo 1- Parecer do Comitê de Ética para Pesquisa com Seres Humanos.....	89
Anexo 2- Carta de Aceite do Artigo “Bone Quantity and Quality in Brazilian Female School Children and Adolescents” Enviado ao Journal of Bone Mineral Metabolism.....	91
APÊNDICES.....	92
Apêndice 1- Carta Enviada aos Diretores das Escolas.....	93
Apêndice 2- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	94
Apêndice 3- Questionário de Classificação Socioeconômica e Caracterização Étnica do Escolar.....	95
Apêndice 4- Ficha de Avaliação.....	97
Apêndice 5- Autorização das Escolas para Realização do Estudo.....	98

INTRODUÇÃO GERAL



A osteoporose deixou de ser uma preocupação exclusiva de indivíduos adultos e idosos, uma vez que a densidade mineral óssea dessa população depende da massa óssea adquirida durante os primeiros 20 a 30 anos de vida (Van der Sluis Im e Muinck Keizer-Schrama, 2001). A organização mundial de saúde define a osteoporose como uma doença osteometabólica, caracterizada pela diminuição e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, com conseqüente aumento da fragilidade do osso e da suscetibilidade a fraturas (WHO, 1994).

A incidência de fraturas osteoporóticas está estreitamente relacionada à massa óssea do indivíduo, que depende tanto da quantidade de tecido ósseo adquirido durante toda a vida, em especial na puberdade e início da vida adulta quanto da velocidade de perda durante a vida (Brandão e Vieira, 1999; Silva et al., 2007; Tan et al., 2007). A osteoporose e as fraturas decorrentes dela são causa de elevadas taxas de morbidade, mortalidade e custos médicos em todo o mundo e, por estes motivos, têm sido consideradas um problema de saúde pública (Fässler e Bonjour, 1995; Melton, 2000; Vellas et al., 2000; Neto-Pinto et al., 2002; Frazão e Naveira, 2006). A prevenção deve ser focalizada não somente na perda óssea, mas principalmente na obtenção do pico de massa óssea ideal (Heaney et al., 2000), podendo este contribuir com aproximadamente 50% na variação do conteúdo mineral ósseo (CMO) até a idade de 65 anos (Nordström et al., 1995; Mora e Gilsanz, 2003; Wu et al., 2008). Acredita-se que, ao se potencializar o acúmulo de massa óssea no período pubertário e a manutenção desse tecido na vida adulta, pode-se minimizar as reduções com o avançar da idade, contribuindo, assim, para a prevenção da osteoporose.

Com isto, tem havido grande interesse na compreensão de como o tecido ósseo se comporta durante o crescimento e desenvolvimento, e na identificação dos principais fatores que podem influenciar no seu processo de formação.

A massa óssea muda consideravelmente durante as várias fases da vida, tendo seu início na vida fetal, ocorrendo um aumento acelerado nos três primeiros anos de vida pós-natal, em seguida, mantém-se numa baixa velocidade de ganho até o início da puberdade, quando o ritmo eleva-se novamente. Após o término da puberdade, a velocidade

de ganho anual de densidade mineral óssea diminui progressivamente até aproximadamente a terceira década de vida, quando é atingido o pico de massa óssea (Silva et al., 2004).

O período da infância e da adolescência é marcado por uma taxa de formação óssea muito importante, com predomínio da formação em relação à reabsorção. Na idade adulta, ambos os processos se estabilizam, e, a partir dos 45 anos aproximadamente, principalmente no sexo feminino, ocorre predomínio da reabsorção óssea (Silva et al., 2004; Wüster et al., 2000; Maalouf et al., 2007).

A infância e a adolescência são consideradas as fases mais importantes para aquisição do pico de massa óssea, definido como quantidade máxima de tecido ósseo presente ao final do período de maturação esquelética de um indivíduo, sendo vinculado e influenciado por fatores genéticos, hormonais e ambientais (Mora e Gilsanz, 2003).

Vários são os estudos avaliando os efeitos do gênero, da raça e da composição corporal na massa óssea, no entanto, seus resultados ainda são controversos. Autores como Carrascosa et al. (1996), Brandão et al. (1999); Fonseca et al. (2001), utilizando-se do método DEXA (Dual Energy X Ray Absorptiometry) para avaliar o conteúdo e densidade mineral ósseos de crianças e adolescentes, não encontraram diferença entre os gêneros, com exceção na puberdade, onde as meninas apresentaram maior massa óssea. Outro estudo avaliando crianças e adolescentes (Baroncelli et al., 2006), utilizando-se da ultrassonografia de falanges, confirmaram estes achados, onde não foram observadas diferenças estatísticas significativas, entre os gêneros, nas faixas etárias dos 2 aos 8 anos e dos 15 aos 21 anos de idade, somente entre a faixa etária dos 9 aos 14 anos as meninas apresentaram quantidade óssea maiores que os meninos. Diferentemente, Santos et al. (2008), avaliando a quantidade e qualidade óssea, em 99 escolares com idades entre 6 e 10 anos, demonstraram que as meninas apresentavam melhor quantidade e similar qualidade óssea em relação aos meninos.

Com relação à raça, Bachrach et al. (2007) utilizando-se do método DEXA, verificaram que negros apresentam maior massa óssea em relação a indivíduos com outras cores de pele. Em crianças ainda são controversos os resultados em torno das diferenças entre brancos e negros. Alguns pesquisadores (Bell et al., 1991; Nelson et al., 1997)

observaram maior massa óssea para os negros, diferentemente de outros que não encontraram os mesmos resultados (Rupich et al., 1996), no entanto, nenhum deles observou valores superiores para os brancos.

Ainda não são claras as contribuições da composição corporal e de outras variáveis de crescimento na massa óssea. Recentes estudos sugerem que em populações jovens, a massa magra é um preditor de massa óssea (Goulding et al., 2000; Lazcano-Ponce et al., 2003), enquanto que a adiposidade estaria associada com baixa massa óssea e maior risco de fraturas (Goulding et al., 2000).

Nelson et al. (1997), em um estudo longitudinal, avaliando a composição corporal pelo método DEXA em crianças, observaram que o peso corporal, a raça e a interação destas variáveis apresentaram maior valor preditivo para o conteúdo mineral ósseo ($R^2=0.9$) e para a densidade mineral óssea ($R^2=0.64$), e que a estatura, o gênero e a idade explicariam apenas de 1 a 2% da massa óssea. No estudo de Hui et al. (2003), realizado com crianças e adolescentes de 4 a 16 anos, foi observado que a idade, o gênero, os estádios puberais e o tamanho corporal juntos explicariam aproximadamente 92% da variação da massa óssea.

Dessa forma, uma melhor compreensão do longo processo de maturação óssea que ocorre na infância e adolescência permitiria identificar os fatores passíveis de intervenção e a criação de estratégias para prevenção precoce da osteoporose. Se o ganho mineral ósseo puder ser otimizado durante a puberdade, é provável que o indivíduo adulto esteja menos susceptível a sofrer as devastadoras complicações das fraturas osteoporóticas.

É importante ressaltar que a saúde óssea está ligada não apenas aos índices quantitativos de minerais depositados na camada cortical do tecido esquelético, mas também, na qualidade da micro-estrutura relacionada ao grau de organização das trabéculas e à matriz de colágeno disponível na camada endostal. Em tese, a combinação das propriedades força (capacidade de resistir à tensão) e elasticidade (capacidade de se submeter à deformação), é que confere o mais adequado conceito de integridade óssea (Wüster et al., 2000; Currey, 2001).

Assim, uma das questões mais debatidas em pesquisas ósseas pediátricas, refere-se ao método de avaliação. Vários métodos, não invasivos, já foram desenvolvidos na busca de melhor avaliar o tecido ósseo. Os frequentemente utilizados e citados em estudos científicos baseiam-se na propriedade física do osso de absorver fótons. Dentre estes, estão a absorptiometria por emissão simples de fótons (SPA – *single photon absorptiometry*), emissão simples de raios X (SXA – *single X-ray absorptiometry*), dupla emissão de fótons (DPA – *dual photon absorptiometry*), dupla emissão de raios X (DEXA – *dual-energy X-ray absorptiometry*), tomografia computadorizada quantitativa (QCT – *quantitative computed tomography*), tomografia computadorizada quantitativa periférica (pQCT – *peripheral quantitative computed tomography*), ressonância magnética quantitativa (QMR – *quantitative magnetic resonance*), raio X digital (DXR – *digital X-ray radiogrammetry*) e a ultrassonografia quantitativa (QUS – *quantitative ultrasound*). Este último, diferente dos demais métodos citados acima, mede a velocidade de propagação e atenuação do ultra-som no osso, não utilizando radiação ionizante.

Estes métodos, com exceção da ultrassonografia, usam uma fonte de radionucleotídeos ou um tubo de raios X para gerar um feixe de radiação que é absorvido parcialmente pelo tecido ósseo. Um sistema detector avalia a quantidade de radiação absorvida e os dados coletados são computadorizados e comparados a referências internacionais obtidos de uma população com densidade mineral óssea normal (Gowin e Felsenberg, 1996).

Densidade é a relação entre peso e volume de um material e sua unidade de medida é grama por centímetro cúbico (g/cm^3). No entanto, a densidade mineral óssea (DMO) mensurada por DEXA, SPA, SXA ou DPA é a relação entre a quantidade de minerais, presente na área projetada de osso, ou seja, é a avaliação bidimensional de uma variável tridimensional, empregando grama por centímetro quadrado (g/cm^2) como unidade. A QCT avalia a densidade como a verdadeira medida de volume em miligramas por centímetro cúbico (mg/cm^3), no entanto, este método é pouco indicado para crianças e mulheres em idade fértil, pois emprega altas doses de radiação (Kreipe, 1992; Gowin e Felsenberg, 1996; Chan e Bishop, 2002).

Entre todos os métodos citados, que usam radiação ionizante, o DEXA é o mais utilizado na avaliação da massa óssea em crianças, pois é rápido, de grande precisão e utiliza quantidade baixa de radiação (Slosman et al., 1995; Carrascosa et al., 1996; Horlick et al., 2004; Canhão et al., 2004). Este se baseia na atenuação sofrida pelos raios X ao atravessar tecidos do corpo, de forma que os dois tipos de energia padronizados nestes raios possibilitam diferenciar os vários tecidos corporais, dividindo o organismo em tecido ósseo, conteúdo e densidade mineral óssea, massa gorda e massa magra (Lazaretti-Castro, 2004).

O conteúdo mineral ósseo é a quantidade de mineral presente na extensão do osso avaliado, por convenção em grama como unidade de medida (Gowin e Felsenberg, 1996) e dividindo esta variável pela área, obtém-se a densidade mineral óssea em g/cm^2 , ou seja, uma densidade de área, não volumétrica. Este é um dos problemas na interpretação da densidade mineral óssea avaliada pela DEXA na faixa etária pediátrica, pois a geometria e o tamanho do osso durante o crescimento e o desenvolvimento variam consideravelmente. Uma vez que a área não aumenta na mesma proporção que o volume do osso, a densidade mineral óssea verdadeira pode ser superestimada em ossos grandes e subestimada em ossos pequenos (Kröger, 1996; Chan e Bishop, 2002; Campos et al., 2003; Lazaretti-Castro, 2004).

Outra dificuldade na análise da densidade mineral óssea pela DEXA é estabelecer um padrão de normalidade adequado, pois variáveis como estatura, peso e estadio puberal devem ser consideradas, além da idade cronológica e do gênero. Deve-se ressaltar ainda que, ao avaliar crianças e adolescentes pela DEXA é realizada uma comparação a uma população de referência e, uma vez que a maioria dos *softwares* utiliza uma população específica quanto aos critérios raciais, isto prejudica a interpretação dos resultados em crianças brasileiras, que apresentam grande miscigenação racial (Brandão, 1999) e em estudos populacionais, torna-se inviável o uso deste método, devido ao alto custo operacional, não ser portátil e requerer, para populações pediátricas, o uso de um *software* específico (Hans et al., 1999).

Neste sentido a QUS tem-se apresentado como um método que, além de avaliar a massa, analisa também fatores da micro-arquitetura trabecular do tecido ósseo como a conectividade e espaçamento das trabéculas. A QUS é um método isento de radiação ionizante, portátil, mais econômico, quando comparado ao DEXA, tanto em termos de custo de equipamento, quanto em termos da execução (Lu et al., 1996; Wren et al., 2005).

Os equipamentos de ultra-som utilizam o princípio de propagação de ondas que podem refletir, refratar, divergir e serem transmitidas quando o feixe atravessa materiais de diferentes impedâncias acústicas como as interfaces entre o osso e o tecido mole e, com isso, parâmetros como velocidade do som no meio e atenuação em banda larga (*Broadband Ultrasound Attenuation* - BUA) são extraídos para fornecer informações sobre a estrutura óssea. O método utiliza a energia ultra-sônica convertida de um sinal elétrico produzido pelos transdutores para avaliar a estrutura óssea de regiões periféricas como o calcâneo, o rádio distal, as falanges ou a tíbia. O ultra-som é uma onda mecânica com frequência superior a 20 kHz e está acima da frequência audível ao ser humano.

De acordo com Wüster e Hadji (2001), desde a última década, tem se solidificado no campo investigativo, o emprego da ultrassonografia, por meio dos equipamentos, como o DBM Sonic. O método, em nosso meio, foi validado após o crivo rigoroso de estudos longitudinais bastante extensos e com grandes casuísticas (Ianetta, 2006). Além disso, tem mostrado um coeficiente de variação muito baixo conferindo-lhe uma grande precisão e confiabilidade na medida realizada.

O equipamento de ultrassonografia utilizado neste estudo (Figura 1) é provido de um compasso que acopla dois transdutores (emissor e receptor) de 12 mm de diâmetro cada, sendo estes de alta precisão ($\pm 0,02$ mm). O compasso é posicionado no ponto anatômico da metáfise distal de cada uma das quatro últimas falanges proximais (II a V) na mão não-dominante, o transdutor emissor emite uma onda sonora de 1,25 MHz, que perpassa, transversalmente, os elementos constitutivos do tecido ósseo (camada cortical, micro-estruturas trabeculares e matriz de colágeno), o transdutor receptor recebe o sinal e avalia a velocidade da propagação do som através da falange (Lu et al., 1996; Wren et al., 2005).

Dois parâmetros fundamentais resultam das medidas: a velocidade do som, chamada de AD-SoS (*Amplitude Dependent Speed of Sound*) expressa em metros por segundo (m/s), representando a velocidade de som após percorrer os três tipos de ossos das falanges. Este valor é obtido de forma automática e representa a média dos melhores valores de cada falange (II –V), após 96 aquisições de medida de velocidade do ultra-som, que por transmissão rastreiam as trabéculas do tecido ósseo. Na avaliação do registro elétrico, a amplitude do sinal somente é considerada quando um mínimo de valor é atingido, denominado nível limiar ou nível de gatilho (Iannetta, 2006). A AD-SoS, também denominada osteossonometria, representa a quantidade óssea e os resultados obtidos nessa medida compreendem valores entre 1.650 a 2.250 m/s.



Figura 1- Equipamento DBM Sonic BP, IGEA, de 3ª geração, e posicionamento da mão para avaliação.

O outro parâmetro é o UBPI (*Ultrasound Bone Profile Index*) obtido a partir da análise do comportamento dos três tipos de ossos (endostal, trabecular e cortical) representado no perfil biofísico ósseo (Figura 2), que também é denominado osteossonografia, obtido após aquisição de 96 registros por automação, mediante análise matemática multifatorial ($UBPI = - (-0,0018 \cdot SDY - 0,0560 \cdot FWA - 0,1467 \cdot BTT + 3,0300)$ (FWA - *Fast Wave Amplitude*; SDy - *Signal Dynamic* e BTT - *Bone Transmission Time*), cujo cálculo independe do operador que manuseia o equipamento. A aplicação desse índice é de vital importância porque realiza as correlações entre seus parâmetros, que

refletem as propriedades mecânicas do osso. Este índice tem a capacidade de refletir a elasticidade e a homogeneidade óssea da região, acusando a sua deterioração com decênios de antecedência através da atenuação progressiva do osso, que é o primeiro a refletir as inadequadas interferências dos fatores endógenos e exógenos (Wüster et al., 2000).

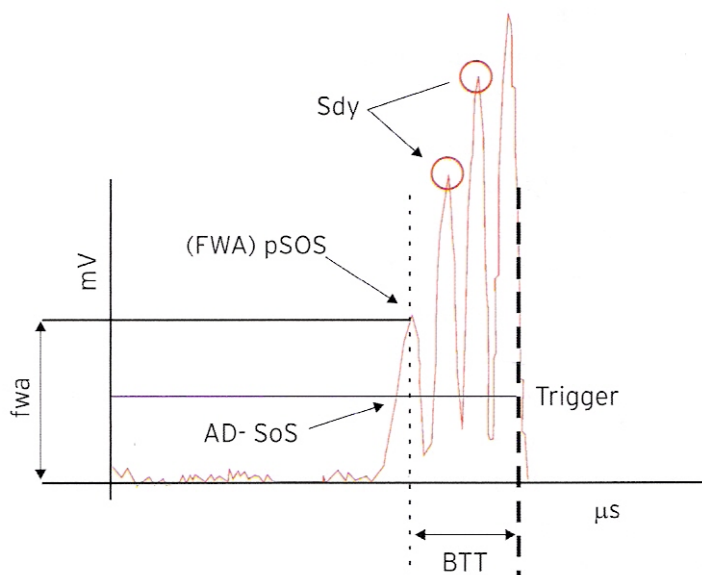


Figura 2- Perfil Biofísico Ósseo: obtido após o ultra-som *power beam* cruzar as camadas endostal, trabecular e cortical da metáfise óssea das falanges proximais da mão, em pacientes com qualidade e quantidade óssea normal (as setas indicam alguns parâmetros passíveis de avaliação) (Iannetta, 2006).

O parâmetro FWA representa a amplitude do primeiro pico do perfil biofísico ósseo, é expresso em mV e avalia a elasticidade óssea. O SDY representa a análise comparativa entre os dois picos do perfil biofísico ósseo, expresso em $\text{mV}/\mu\text{sec}^2$ e avalia a homogeneidade estrutural do tecido ósseo na região da metáfise da falange. O parâmetro BTT representa o arco temporal, percorrido pelo ultra-som na unidade de μ seg, entre o ápice do primeiro pico e a cauda do último com o cruzamento com a linha basal do registro (Wuster, 2000; Ianetta, 2006).

O estudo dos três parâmetros do perfil ósseo permite analisar a elasticidade, homogeneidade óssea e efetuar reconstrução digital em cortes transversais, em tempo real, na região da metáfise distal das falanges proximais da mão (Figura 3). O método é apropriado para a avaliação da qualidade óssea da infância a senilidade, em decorrência de possuir tanto curva de formação como de reabsorção óssea, obtidas de forma inócua, ao longo das faixas etárias, (Iannetta, 2006).

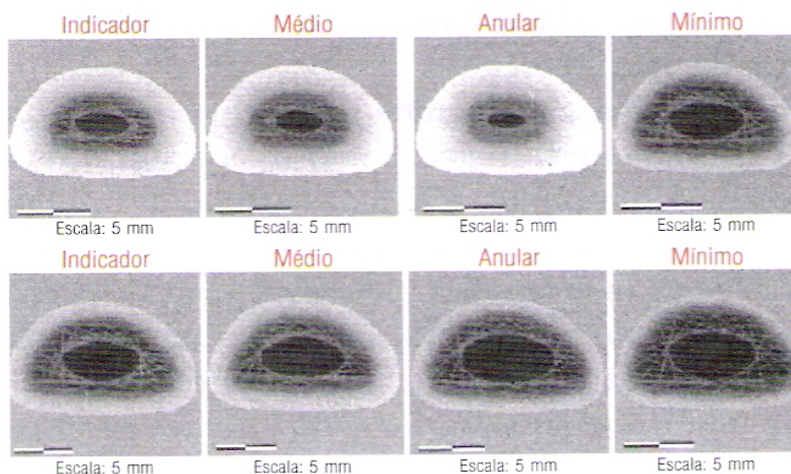


Figura 3- Cortes Sonotomográficos: na parte superior revelam propriedades mecânicas ósseas conservadas e na parte inferior, importantes perdas tanto de elasticidade como da homogeneidade óssea, (Iannetta, 2006).

O método de ultrassonografia de falanges para avaliação óssea já tem mais de 15 anos de estudo e a partir de 2000 o equipamento DMB Sonic BP foi oferecido ao mercado e é o único a avaliar simultaneamente a quantidade e qualidade em um mesmo sitio ósseo (Iannetta, 2006).

Com o surgimento do método de ultra-som, inicialmente acreditava-se, que as medidas ósseas avaliadas por este método, em pouco tempo, iriam substituir os densitômetros em uso, no entanto, os primeiros trabalhos exibiram uma fraca correlação com densidade mineral óssea (medido por DEXA, SPA ou QCT), tanto em pacientes jovens quanto em idosos.

Sendo assim, definitivamente este método não mede a densidade óssea da mesma forma que o DEXA (g/cm^2) ou QCT (g/cm^3), uma vez que diferentemente dos métodos de densitometria, as medidas obtidas são referentes às mudanças da velocidade e atenuação que o ultra-som sofre, provocadas pela orientação trabecular e composição orgânica do tecido ósseo. Ao que tudo indica, a ultrassonografia de falanges nos apresenta um resultado diferente da densidade óssea, mas que pode ser visto como uma provável e nova variável independente, seja ela chamada de quantidade ou qualidade óssea. Estas novas variáveis independentes, juntamente com outras poderão nos trazer mais subsídios para identificarmos dentre os pacientes osteopênicos os que apresentam maior risco de fratura e os que nunca experimentarão tal episódio.

Portanto, a adição das informações da ultra-sonometria aos dados obtidos pela densitometria óssea, talvez possa aumentar a capacidade discriminatória entre grupos de fraturados e não fraturados. Pacientes com comprometimento densitométrico e ultra-sonométrico concomitantes parecem ter maior risco de fratura vertebral que aqueles onde observa-se comprometimento em apenas um dos métodos (Bauer et al., 1995; Cumming et al., 1995; Turner et al., 1995).

Outro aspecto que deve ser considerado é a existência no Brasil de uma grande mistura racial, devido ao cruzamento dos índios nativos, dos colonizadores brancos europeus e dos negros africanos, particularmente do oeste da África. Não existem estudos populacionais em escolares no Brasil mostrando as diferenças da cor da pele na quantidade e qualidade óssea. Contudo, no Brasil, um país miscigenado por natureza tanto do ponto de vista biológico (racial) como étnico (sócio-cultural), não é fácil realizar estudos avaliando este efeito. Dois assuntos costumam ser citados como obstáculo a pesquisas com desfechos de saúde segundo o recorte racial no Brasil: a definição de “raça” e as dificuldades de sua “classificação”.

Discussões sobre “raça” ou “grupo étnico” apresentam opiniões controversas, basta dizer que não há consenso sobre o significado exato dessas. Por exemplo, a palavra “raça” pode ser usada de muitas maneiras, uma delas é no sentido morfológico denotando um conjunto de caracteres físicos (cor da pele ou textura do cabelo) que nos permite identificar indivíduos como pertencentes a certo grupo racial. No Brasil, a palavra cor é

usada como seu sinônimo nesse contexto. “Raça” pode também denotar origem em uma região do globo, assumindo o significado de ancestralidade geográfica fala-se então de uma raça africana, raça oriental, etc. Finalmente, raça pode ser usada em um sentido biológico, para caracterizar uma população geneticamente diferenciada (Pena, 2005).

Quanto à classificação da raça, verifica-se a ausência de um consenso para tal. Diferentes métodos de classificação racial têm sido avaliados em estudos de saúde no Brasil e em outros países (Fuchs et al., 1996; Boehmer et al., 2002; Fuchs et al., 2002). Alguns autores consideram que a autoclassificação, comparada à categorização realizada por entrevistadores, é o método que melhor reflete a identificação do indivíduo com os diversos grupos raciais (Kaufman et al., 1999; Boehmer et al., 2002). Outros apontam que a melhor abordagem depende do objetivo do estudo. Assim, por exemplo, no caso de investigações sobre a discriminação racial, observadores externos expressariam melhor a forma como o indivíduo é “visto” pela sociedade (Williams, 2002; Kaplan e Bennett, 2003).

Diversos autores têm chamado a atenção para o fato de que as categorias utilizadas nos censos do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2000) (branca, preta, amarela, parda, indígena) correspondem à maior parte dos termos utilizados pela população em perguntas abertas, para autoclassificação racial (Silva, 1988; Silva, 1999; Chor et al., 2005).

Desta forma, o país passou a adotar oficialmente desde 1991 a proposta feita pelo IBGE, onde a classificação racial tem como diretriz, essencialmente, o fato da coleta de dados se basear na autoclassificação. Ou seja, a pessoa escolhe, de um rol de cinco itens (branco, preto, pardo, amarelo e indígena) em qual deles se aloca. Sabendo-se que raça não é uma categoria biológica, todas as classificações raciais, inevitavelmente, padecerão de limitações.

O IBGE trabalha então com o que se chama de "quesito cor", ou seja, a "cor da pele", conforme as seguintes categorias: branco, preto, pardo, amarelo e indígena. Indígena, teoricamente, cabe em amarelos (populações de origem asiática, historicamente catalogados como de cor amarela), todavia, no caso brasileiro, dada a história de dizimação dos povos

indígenas, é essencial saber a dinâmica demográfica deles. Outro dado que merece destaque é que a população negra, para a demografia, é o somatório de preto e pardo, segundo o INEP (Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais, 2005).

Deve ficar claro, contudo, que a aceitação da necessidade das informações sobre raça implica em admitir, ao mesmo tempo, suas limitações e seu posicionamento como eixo de constantes manobras políticas que influenciam sua coleta, interpretação e publicação.

Diante disso, estudos populacionais envolvendo características de crescimento e desenvolvimento são importantes podendo detectar possíveis diferenças no estado de saúde e, por conseguinte, nas condições de vida, de integrantes de uma população em comparação com os de outras; ou ainda, entre subgrupos dessa mesma população. As variações intra e interpopulacionais podem, ainda, enriquecer o conhecimento sobre o processo de desenvolvimento da criança e do adolescente e a relativa importância do papel dos fatores genéticos e ambientais.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a quantidade e qualidade óssea, por meio da ultrassonografia de falanges em escolares saudáveis, brancos e negros, em relação ao nível socioeconômico e à composição corporal, e comparar a quantidade óssea com dados de estudos europeus.

Objetivos específicos

Capítulo I: *“Bone mass in schoolchildren in Brazil: the effect of racial miscegenation, pubertal stage and socioeconomic differences”*.

Avaliar a massa óssea em escolares saudáveis brancos e negros em relação ao nível socioeconômico, maturação sexual e à composição corporal.

Capítulo II: *“Bone quantity of white and black Brazilian schoolchildren evaluated by quantitative ultrasound of phalanges: comparison with European studies”*.

Comparar a quantidade óssea de escolares Brasileiros saudáveis brancos e negros de seis a onze anos de idade de ambos os gêneros com cinco estudos europeus.

CAPÍTULOS



CAPÍTULO I

ARTIGO SUBMETIDO E ACEITO PELO JOURNAL OF BONE AND MINERAL
METABOLISM (ANEXO 2)

BONE MASS IN SCHOOLCHILDREN IN BRAZIL: THE EFFECT OF RACIAL MISCEGENATION, PUBERTAL STAGE AND SOCIOECONOMIC DIFFERENCES

Roberto Regis Ribeiro, Gil Guerra-Junior, Antonio de Azevedo Barros-Filho

Center of Investigation in Pediatrics – Department of Pediatrics – Faculty of Medical
Sciences – University of Campinas (UNICAMP) – Campinas – SP – Brazil

Address Correspondence:

Gil Guerra-Junior, MD, PhD

Department of Pediatrics

Faculty of Medical Sciences PO Box 6111

University of Campinas (UNICAMP)

Campinas – SP – Brazil Zip Code 13083-970

Phone: 55-19-3521-8923 Fax: 55-19-3521-8925

e-mail: gilguer@fcm.unicamp.br

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the bone mass by phalanxes ultrasound in healthy white and black schoolchildren, in relation to socioeconomic level, pubertal stage and body composition. It was included 1,356 healthy schoolchildren aged from six to eleven years from different socioeconomic levels and both genders, and all of them were divided into white and black groups. Weight, height, body mass index, fat percentage, fat mass and lean mass were evaluated by anthropometric methods and AD-SoS bone quantity and UBPI bone quality were evaluated using a 3rd generation IGEA phalanxes DBM Sonic BP ultrasound. Data were compared using the Mann-Whitney, chi-squared, correlation coefficient and analyses of multiple linear regression statistical tests with 5% significance. Black schoolchildren predominated in the low socioeconomic levels. Higher values of weight and height for black boys and girls were observed in the lean mass in relation to the white children of the same gender and age. An increasing variation in the bone quantity mean was observed from six to eleven years of age and pubertal stage for both genders and skin color. The white schoolchildren presented higher values of bone quantity and quality in relation to the black children. The anthropometric, gender and socioeconomic level variables explained only 16 and 11% of the variability of bone quantity and quality, respectively. As such, the present study, carried out with healthy black and white Brazilian schoolchildren, demonstrated higher bone mass, as evaluated by ultrasound, in white than in black schoolchildren.

Key-words: osteosonometry, bone mass, ultrasound, phalanxes, schoolchildren.

Introduction

Childhood and adolescence are very important periods for the acquisition of peak bone mass, defined as the maximum quantity of bone tissue present at the end of the skeletal maturation period of an individual. Factors such as genetics, gender, hormones, race, nutrition, life style and the environment are determinants in the definition of bone mass and its loss after peak levels are reached, as demonstrated by the difference between the quantity reached in the maturity and the loss that occurs with age [1].

The bone mass of individuals paired by gender and age present significant differences, according to their race or the place where they live [2]. For example, the average bone mass of black women is higher than that of white women, which is in turn higher than that of Asian women. In addition, the bone mass of women from the north of Mexico is higher than the bone mass of women from the central part and south of Mexico [3,4].

In general, studies have shown that the mineral bone density in black people is higher when compared to that of white people, when stratified by age not body weight [4-9]. The etiology of these differences remains unknown, and the majority of these studies were carried out in the USA, Europe and South Africa, while few have been carried out exclusively with children [10,11]. These findings may be associated with a smaller prevalence of osteoporosis in black adults, compared to other ethnic/racial groups [4,5]. Although, the bone mass in black individuals from the Caribbean is higher than that of black Americans [9,12], this difference may be explained by the miscegenation percentage: black Americans present approximately 25% of miscegenation with Europeans, while black people from the Caribbean present just 6% [13].

Brazil is a country with economic, social, racial and cultural diversities, and is also very different from the other countries where the majority of studies regarding bone mass in children have been carried out, thus this study had the purpose of evaluating bone mass in healthy white and black schoolchildren in relation to the socioeconomic level, pubertal stage and body composition.

Materials and Methods

This is a cross-sectional study with schoolchildren from six to eleven years of age, from both genders, from the cities of Ceu Azul and Vera Cruz do Oeste in the state of Parana. These cities are located in the western region of the state of Parana, Brazil, at nine kilometers distance from each other and approximately 566 km from Curitiba, capital of the state. These two cities were colonized in the 1960-70's. A great migration of white-skinned people from the south of Brazil to the city of Ceu Azul occurred, and all of these individuals were Italian and German descendents coming from Rio Grande do Sul and Santa Catarina states. In contrast, a migration of black individuals, descendants of slaves, coming from the state of Sao Paulo and south of Minas Gerais state, occurred to the city of Vera Cruz do Oeste, as such these two cities present inhabitants with an absolute predominance of the skin color that colonized them, i.e. white people in Ceu Azul and black people in Vera Cruz do Oeste [14].

The racial classification adopted by the Brazilian Government is based on the self-declaration of skin color, i.e., the legal guardians of the schoolchildren declare them as white, black, mulatto, yellow or indigenous [15]. From a population of 1,576 schoolchildren that returned a signed term of consent informed, authorizing the participation in this study, 220 schoolchildren were excluded; 98 for presenting a different skin color to those of interest in the study (yellow or indigenous); 35 for having known chronic diseases, or for being physically deficient, or for presenting a medical history with restrictions or for being under medication that affects the bone metabolism; and 87 with body mass index (BMI) over +2 SD or under -2 SD for their age and gender. Thus, the final sample for the study was made up of 1,356 schoolchildren.

The schoolchildren were weighed wearing light clothes and shoeless, using a portable Tanita[®] bioelectrical impedance analysis scale and measured with a vertical stadiometer. The BMI was obtained by the relation between the weight (Kg) and height squared (m^2). The fat percentage, fat mass and lean mass were estimated by bioelectrical impedance analysis. To achieve uncompromised results, the parents or guardians of the schoolchildren were informed with regard to procedures to be undertaken before the

evaluation; not to eat or drink 4 hours before the evaluation; not to exercise 12 hours before; and to urinate 30 minutes earlier.

Pubertal development was evaluated by self-assessment of breast stage in girls and genital characteristic in boys, according to Marshall and Tanner standard criteria [16,17], since children's and adolescents' assessment of their own pubertal stage was accurate. Stage I was considered pre-puberty, II and III puberty and IV and V end-puberty.

The bone bi-epicondyle diameters of the humerus and femur were measured, from which the sum of the bone diameters (ΣDO) was calculated [18]. In relation to age and gender, for the calculation of the z score of the weight, height and BMI, were used the data from National Center for Health Statistics (NCHS - CDC - 2000). With the objective of obtaining a sample of healthy schoolchildren in relation to the nutritional state, these data were adopted as cut points values over +2 SD or under -2 SD for age and gender.

The bone mass was evaluated by 3rd generation DBM Sonic[®] BP IGEA ultrasound. This device possesses a compass that connects two 12mm-diameter transducers, an emitter and a receptor, with a high precision of ± 0.02 mm. The compass is placed in the anatomical point of the distal metaphases of each of the last four proximal phalanges II to V on the non-dominant hand. The emitter transducer emits a sound wave of 1.25 MHz that transversally passes the constitutive elements of the bone tissue, while the receptor transducer receives the signal and evaluates the speed of propagation of the sound through the phalanx. This measurement provides the quantitative (AD-SoS = Amplitude Dependent Speed of Sound) and qualitative parameters (UBPI = Ultrasound Bone Profile Index). The AD-SoS and the UBPI values are obtained automatically and represent the mean of 96 acquisitions of measures. The AD-SoS evaluates the speed of the ultra-sound in m/s that, by transmission, tracks the trabeculas of the bone tissue on the four proximal phalanges. The values obtained from these measures range between 1,650 to 2,250 m/s. The UBPI, by a multi-factorial mathematics analyses process, is measured as values between zero and one, and the closer the value is to one, the better is the bone quality [19,20].

The calibration and time stability of the device was checked daily with the internal calibration procedure by using the Plexiglas cube provided together with the device. A quality control was performed periodically by IGEA using a cross-calibration

procedure between different devices against each other. Furthermore, IGEA controlled the cross-calibration at the beginning and end of the study by measuring the AD-SoS on the same cross-calibration phantom and the data obtained were completely superimposable. In the case of graphic traces not triggered on the first peak a recalculation of the velocity, as measured on the highest point of the first peak, was done [21].

The evaluation of the socioeconomic level occurred by means of a questionnaire that was answered by the guardians of the schoolchildren, using the Economic Classification Criteria proposed by the National Agency of Research Companies [22]; the questionnaire evaluated the educational level of the head of the family, the number of monthly paid housekeepers in the house and eight items of possessions, scores achieved were divided by the sum of the scores of each answer in the high, medium, medium-low and low socioeconomic levels.

The data were processed in the SPSS[®] program for Windows, version 13.0, and the descriptive analyses were made by calculating means and standard-deviation. The non-parametric Mann-Whitney test was used for the comparison of age variables, weight, height, BMI, $\sum$ DO, fat percentage, fat and lean mass, AD-SoS and UBPI between the genders and the colors of skin. For the socioeconomic level, in relation to the color of skin, the chi-squared test was used. *Pearson* coefficients were calculated for the analyses of the correlation between AD-SoS and UBPI with the anthropometrical variables and body composition, and the *Spearman* correlation was used to correlate the variables of age, gender, socioeconomic level, skin color and pubertal stage. Multiple regression analyses were then used to determine the effects of each independent variable, weight, height, BMI, $\sum$ DO, fat percentage, fat and lean mass, age, gender, socioeconomic level, skin color and pubertal stage on dependent variables AD-SoS and UBPI. For all the analyses, a significance level of $p < 0.05$ was adopted.

The project was approved by the Ethics Committee for human investigation of the UNICAMP with the number 557/2003.

Results

From the total of 1,356 schoolchildren evaluated, 48.7% were boys, 840 were white (53% girls), 215 were black (48.8% girls) and 301 were mulattos (48.5% girls).

Comparing the bone quantity between the schoolchildren's skin colors, the black and mulatto children presented similar values ($p=0.12$), which differed from those of the white schoolchildren. Bearing in mind the lower number of schoolchildren evaluated from both genders in the black and mulatto groups in relation to the white groups of the same age, it was decided to gather the black and mulattos in just one "black" group.

The evaluation of the socioeconomic level, according to the color of the skin, showed that 47.5% of the white and 20.8% of the black children were classified in the medium and medium-high levels, while the remaining 52.5% of white and 79.2% of black children were classified in the medium-low and low levels. When the medium-high and medium levels were gathered in relation to the medium-low and low levels, statistically significant difference was found between the total of white schoolchildren in relation to black, with a predominance of black children in the medium-low and low levels ($\chi^2=102.23$; $p=0.0001$).

In relation to pubertal stages, there were no statistically significant differences between skin color ($\chi^2=1.997$; $p=0.736$), but for gender, girls presented earlier maturation in relation to boys ($\chi^2=157.43$; $p=0.0001$).

When skin color was evaluated in schoolchildren of the same gender, a statistically higher values were found for black boys in relation to the white boys in the variables of z score of weight ($p=0.001$) and height ($p=0.001$) and higher values were found for the black girls for lean mass ($p=0.02$; Table 1).

The mean values of AD-SoS generally demonstrated an increasing variation from six to eleven years of age, for both genders and color of skin. The AD-SoS, for the same gender and age, in relation to the color of skin, presented statistically significantly higher values for white girls in relation to black girls at the ages of seven ($p=0.002$), nine

($p=0.003$) and eleven ($p=0.03$), and for white boys in relation to black boys at the ages of six ($p=0.04$), eight ($p=0.04$) and ten ($p=0.02$) (Table 2).

The UBPI, for the same gender and age, in relation to the color of skin, presented statistically significantly higher values for white girls in relation to black girls at the ages of seven ($p=0.001$) and nine ($p=0.01$), and for white boys in relation to black boys at the ages of seven ($p=0.01$) and ten ($p=0.01$) (Table 3).

AD-SoS and UBPI generally demonstrated an increment variation with pubertal stage advancing, for both genders and color of skin (Pre-puberty: AD-SOS = $1,894.9 \pm 64.6$, UBPI = 0.49 ± 0.17 ; Puberty: AD-SOS = $1,927.9 \pm 57.6$, UBPI = 0.55 ± 0.17 ; end-puberty: AD-SOS = $1,954.6 \pm 46.1$, UBPI = 0.62 ± 0.17), and these differences were always lower and statistically significant between pre-puberty and puberty groups ($p=0.001$), pre-puberty and end-puberty groups ($p=0.001$) and puberty and end-puberty groups ($p=0.001$) (Tables 2 and 3).

The difference observed in the bone quantity and quality between black and white children of this study were statistically significant in some age groups, in the case of AD-SoS, the percentage differences between the means were low (females, 7-years old = 2.05%, 9-years old = 2.05%, 11-years old = 0.97%; males, 6-years old = 2.24%, 8-years old = 1.37%, 10-years old = 1.57%); however, this did not occur for UBPI (females, 7-years old = 22.41%, 9-years old = 15.78%; male, 7-years old = 14.28%, 10-years old = 9.61%).

All the variables analyzed presented statistically significant correlations, however they were very low in relation to AD-SoS and to UBPI (Table 4). The multiple regression analysis indicated a statistically significant interaction of variables that explained, in part, the AD-SoS ($R^2 = 0.16$) and UBPI ($R^2 = 0.11$). For AD-SoS the variables were height, ΣDO , socioeconomic level and gender and for UBPI were fat percentage, height, ΣDO and socioeconomic level. These results demonstrated that the independent variables may explain from 16 to 11% of the variability of AD-SoS and UBPI, respectively.

Discussion

This study demonstrated higher values of weight and height for black boys and lean mass for black girls in relation to white schoolchildren of the same gender and age. Black schoolchildren predominated in the lower socioeconomic levels. An increasing variation was observed from six to eleven years of age for both genders and skin color for the AD-SoS means. But in both gender and skin color, AD-SoS and UBPI were higher according puberty stage advancing. The white skinned children presented higher values of AD-SoS and UBPI in relation to the black children. The analysis of multiple linear regression showed that the independent variable explained only 16 and 11% of the variability of AD-SoS and UBPI, respectively.

In Brazil, the Single Health System (SUS) was created in 1990, after the approval of the new Federal Constitution in 1988, to guarantee the right for all citizens to the free access and use of health services. However, the inequalities in the attention to health, mainly between white and black people, still persist and are more pronounced in relation to the state of health rather than the use of the health services, probably reflecting the precarious conditions of life and the large economic difficulty of black individuals [23,24]. This study also shows that black people, in Brazil, predominate in the lower socioeconomic levels, just as in other studies in Brazil [23], and in other countries, such as the USA [25].

Brazilians form one of the most heterogeneous populations in the world, as the result of more than five centuries of miscegenation of people from different ethnic groups of four continents: Americans, Europeans and Africans, and also Asians. When the Portuguese discovered Brazil in 1500, around 2.5 million American Indians were already in the country. The initial colonization involved almost exclusively Portuguese men, thus, the first miscegenation occurred between European men, mainly Portuguese men, and Indian women. Between 1500 and 1800 around half a million Portuguese men arrived in Brazil. Since the middle of the XVI century up until 1855, around four million black Africans came to Brazil. In 1808, the Portuguese royalty moved to Brazil and opened the ports to all nations. Between 1820 and 1975, around six million immigrants officially arrived in Brazil;

70% Portuguese and Italians, in equal numbers, followed by the Spanish, German, Syrian, Lebanese and Japanese [26].

In Brazil, miscegenation is an aspect that must always be considered in racial analyzes [27,28], therefore, since 1991 the country has officially adopted the proposal made by the Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). This proposal advises, essentially, that data collect should be based on self declaration, i.e., each individual chooses from five races, white, black, mulatto, yellow and indigenous, that which he or she feels adequate [15]. Telles [27] evaluated the proportion of people with African ancestry in a rural community in Brazil, where the group of individuals classified as black, presented a proportion of African ancestry of 51%, while for the mulatto the value was 44%. These data reveal that the mulattos present greater resemblance to the African ancestry of the black community, scientifically supporting the strategy of political mobilization used by the black movement of Brazil, that consists in grouping black and mulatto individuals into the black category [28]. The IBGE defines individuals who declare themselves as mulatto or black as black [15]. Although, studies with molecular markers of African ancestry of Brazilians, especially in the south and southeast regions, with a predominance of European colonization, demonstrated intermediate values between white Europeans and black Africans, suggesting that the skin color is a weak predictor of African ancestry [29,30].

Although the black individuals of this study presented a lower socioeconomic level, higher values for weight and height were verified for black boys and black girls in the lean mass in relation to the white schoolchildren from the same gender and age. The data in the literature regarding the comparison of the anthropometry and body composition between genders are variable, and depend obviously on the sexual maturation and racial, geographic, economic and cultural diversities [31,32,33]. In the present study, it was not observed differences between sexual maturation and skin color, probably due low number of individuals in the groups of puberty, and mainly in the end-puberty.

The evaluation of the bone mass and mineral bone content has been greatly used for adults as well as for children, for the diagnosis of primary or secondary bone diseases. Recent studies have showed methodological difficulties in the accomplishment of

these diagnoses during childhood and adolescence, as well as common interpretation mistakes [1,19,20].

It is important to highlight that the analyses of bone mass can not be based only on the quantitative indexes of mineral deposited in the layer curtain of the skeletal tissue, but also on complement qualitative analysis, relative to the organization rate of the micro trabecular structures and the collagen matrix available in the layer endostal [20,22].

The bone ultrasound method used in this study has been set in the investigative field during the last decades [34], since it propitiates information about the bone AD-SoS quantity and UBPI quality and presents the advantage of being portable, radiation free, noninvasive, is easy to handle, has an internal error of reliable measurement, which varies between 0.23 and 0.57 % [20,22]. The method uses as referential points for measurement, the distal metaphases of the proximal phalanxes of the 2nd to the 5th finger of the non-dominant hand, the ideal region for the study of bone remodeling to demonstrate the most elevated metabolic activity of the skeleton during all periods of life and a great resemblance with the bone microstructures of the lumbar column [35].

Despite all these advantages, the epidemiological studies using this method are still low [20,21,36,37], and they are all exclusively realized in people of Caucasian origin. This study observed mean values of AD-SoS and UBPI for healthy schoolchildren without apparent bone diseases of both genders between six and eleven years of age, with increasing values with age for AD-SoS and UBPI. The white schoolchildren from both genders presented higher AD-SoS and UBPI values than the black children.

The great majority of the studies carried out in other countries, that demonstrated that black children presented higher bone mass than white used the DEXA – dual-energy X-ray absorptiometry [4-11] method; this method does not evaluate bone quality and does not evaluate the density by the bone volume, but by the area, which can cause difficulties in the interpretation for children during higher growth periods [38,39].

Results regarding differences between black and white in children are controversial in relation to bone mass. Some researchers [40,41] observe higher bone mass for black children, in contrast to others that do not find the same results [42]; however, none of these authors observed higher values for white children. These authors justified the higher bone content observed for black children due to their more precocious sexual maturation. Although the socioeconomic differences of this study did not interfere in the analyses of the body composition between black and white children, it is known that the ingestion of calcium, life style, physical activity practice and other aspects linked to socioeconomic facts might interfere significantly in bone mass, these factors may have influences bone mass in this group of schoolchildren evaluated.

Racial miscegenation may also affect bone mass. Hill et al. [9] showed that the bone mass of Caribbean blacks was higher than that of American blacks, and explained this difference by the miscegenation percentage [12,13]. It is possible that the differences observed in this study for black and white Brazilian schoolchildren lies may result for this miscegenation, as previously commented.

While it is possible to affirm that white children present higher bone quantity and quality means in relation to black children, in some age groups, it is hard to extract a clinical meaning from these differences. It is easier to understand that the differences that occurred between the black and white children were very low for the AD-SoS quantity and higher for the UBPI bone quality, than to observe the significance level of the statistic test. It is also worth remembering that the fact that these differences were statistically significant does not mean that the results should not be interpreted, but means that these differences might have happened due to other factors, such as the large sample size, which allowed small differences to be found, or factors such as the ingestion of calcium, exposure to solar radiation and physical activity, which were not evaluated. Since this is the first study to be utilize this method in children from different socioeconomic levels and color of skin, data should confirmed with other similar studies in other regions of Brazil and in other countries.

Thus, the present study carried out with healthy black and white Brazilian schoolchildren of between six and eleven years old of age presented higher bone mass, as evaluated by ultrasound of phalanxes, in white children compared to black children. This study demonstrate that QUS variables increase gradually with age, being more evident during puberty, a reflection of the structural organization of the bone growth and development or changes in the bone tissue content. These data may reflect the different socioeconomic characteristics and racial miscegenation that occur in Brazil.

Acknowledgements

To CAPES (Coordenacao de Aperfeicoamento de Pessoal de Nivel Superior) for financial support of the research project and support of Roberto Regis Ribeiro master and doctorate scholarship. To the Education Secretary, to the directors and professors of the schools and towns of Vera Cruz do Oeste and Ceu Azul. To all the staff that helped in the data collection and to Keila Donassolo Santos Ribeiro, for dedication and technical aid.

References

- [1] Mora S, Gilsanz V 2003 Establishment of peak bone mass. *Endocrinol Metab Clin North Am* **32**:39-63.
- [2] Hou YL, Wu XP, Luo XH, Zhang H, Cao XZ, Jiang YB, Liao EY 2007 Differences in age-related bone mass of proximal femur between Chinese women and different ethnic women in the United States. *J Bone Miner Metab* **25**:243-52.
- [3] Delezé M, Cons-Molina F, Villa AR, Morales-Torres J, Gonzalez-Gonzalez JG, Calva JJ, Murillo A, Briceño A, Orozco J, Morales-Franco G, Peña-Rios H, Guerrero-Yeo G, Aguirre E, Elizondo J 2000 Geographic differences in bone mineral density of Mexican women. *Osteoporos Int* **11**:562-9.
- [4] Cauley JA, Lui LY, Stone KL, Hillier TA, Zmuda JM, Hochberg M, Beck TJ, Ensrud KE 2005 Longitudinal study of changes in hip bone mineral density in Caucasian and African-American women. *J Am Geriatr Soc* **53**:183-9.

- [5] Neuner JM, Zhang X, Sparapani R, Laud PW, Nattinger AB 2007 Racial and socioeconomic disparities in bone density testing before and after hip fracture. *J Gen Intern Med* **22**:1239-45.
- [6] Leder BZ, Araujo AB, Travison TG, McKinlay JB 2007 Racial and ethnic differences in bone turnover markers in men. *J Clin Endocrinol Metab* **92**:3453-7.
- [7] Travison TG, Araujo AB, Esche GR, McKinlay JB 2008 The relationship between body composition and bone mineral content: threshold effects in a racially and ethnically diverse group of men. *Osteoporos Int* **19**:29-38.
- [8] Travison TG, Beck TJ, Esche GR, Araujo AB, McKinlay JB 2008 Age trends in proximal femur geometry in men: variation by race and ethnicity. *Osteoporos Int* **19**:277-87.
- [9] Hill DD, Cauley JA, Sheu Y, Bunker CH, Patrick AL, Baker CE, Beckles GLA, Wheeler VW, Zmuda JM 2008 Correlates of bone mineral density in men of African ancestry: The Tobago Bone Health Study. *Osteoporos Int* **19**:227-34.
- [10] Vidulich L, Norris SA, Cameron N, Pettifor JM 2007 Infant programming of bone size and bone mass in 10-year-old black and white South African children. *Paediatr Perinatol Epidemiol* **21**:354-62.
- [11] McVeigh JA, Norris SA, Pettifor JM 2007 Bone mass accretion rates in pre- and early-pubertal South African black and white children in relation to habitual physical activity and dietary calcium intakes. *Acta Paediatr* **96**:874-80.
- [12] Shaffer JR, Kammerer CM, Reich D, McDonald G, Patterson N, Goodpaster B, Bauer DC, Li J, Newman AB, Cauley JA, Harris TB, Tyavsky F, Ferrell RE, Zmuda JM 2007 Genetic markers for ancestry are correlated with body composition traits in older African Americans. *Osteoporos Int* **18**:733-41.
- [13] Miljkovic-Gacic I, Ferrell RE, Patrick AL, Kammerer CM, Bunker CH 2005. Estimates of African, European and Native American ancestry in Afro-Caribbean men on the island of Tobago. *Hum Hered* **60**:129-33.

- [14] Cigolini AA 1999 A fragmentação do território em unidades político-administrativas: análise da criação de municípios no Estado do Paraná. [dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina.
- [15] INEP – Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira. Mostre sua raça, declare sua cor. Available at: http://inep.gov.br/imprensa/noticias/censo/escolar/news05_05.htm. Accessed March 05, 2003.
- [16] Marshall WA, Tanner SM 1969 Variations in the pattern of pubertal changes in girls. Arch Dis Child 44:291-303.
- [17] Marshall WA, Tanner SM 1970 Variations in the pattern of pubertal changes in boys. Arch Dis Child 45:13-23.
- [18] Lohman, TG, Roche AF, Martorell R 1991 Anthropometric standardization reference manual, Abridged Edition. Champaign, IL: Human Kinetics Books.
- [19] Wüster C, Albanese C, De Aloysio D, Duboeuf F, Gambacciani M, Gonnelli S, Glueer CC, Hans D, Joly J, Reginster JY, De Terlizzi F, Cadossi R 2000 Phalangeal osteosonogrammetry study: age-related changes, diagnostic sensitivity, and discrimination power. J Bone Miner Res **15**:1603-14.
- [20] Baroncelli GI, Federico G, Bertelloni S, de Terlizzi F, Cadossi R, Saggese G 2001 Bone quality assessment by quantitative ultrasound of proximal phalanxes of the hand in healthy subjects aged 3–21 years. Pediatr Res **49**:713-8.
- [21] Vignolo M, Brignone A, Mascagni A, Ravera G, Biasotti B, Aicardi G 2003 Influence of age, sex, and growth variables on phalangeal quantitative ultrasound measures: a study in healthy children and adolescents. Calcif Tissue Int **72**:681-8.
- [22] ANEP - Associação Nacional de Empresas de Pesquisa. Critério de Classificação Econômica – Brasil. Available at: <http://www.anep.org.br/mural/anep/04-12-97-cceb.htm>. Accessed March 05, 2003.

- [23] Barata RR, Almeida MF, Montero CV, Silva ZP 2007 Health inequalities based on ethnicity in individuals aged 15 to 64, Brazil, 1998. *Cad Saude Publica* **23**:305-13.
- [24] Travassos C, Viacava F, Pinheiro R, Brito A 2002 Utilização dos serviços de saúde no Brasil: gênero, características familiares e condição social. *Rev Panam Salud Publica* **11**:365-73.
- [25] Farmer MM, Ferraro KF 2005 Are racial disparities in health conditional on socioeconomic status? *Soc Sci Med* **60**:191-204.
- [26] IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2000 Brasil: 500 anos de povoamento. Available at: <http://www.ibge.gov.br/brasil500>. Accessed March 05, 2003.
- [27] Telles E 2003 Racismo à brasileira: uma nova perspectiva sociológica, 1ª ed., vol. 1. Relume Dumará, Rio de Janeiro, RJ, BR.
- [28] Oliveira F 2004 Ser negro no Brasil: alcances e limites. *Estud Av* **18**:57-60.
- [29] Carvalho-Silva DR, Santos FR, Rocha J, Pena SDJ 2001 The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. *Am J Hum Genet* **68**:281-6.
- [30] Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SDJ 2003 Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**:177-82.
- [31] Herman-Giddens ME, Slora EJ, Wasserman RC, Bourdony CJ, Bhapkar MV, Koch GG, Hasemeier CM 1997 Secondary sexual characteristics and menses in young girls seen in office practice: a study from the Pediatric Research in Office Settings network. *Pediatrics* **99**:505-12.
- [32] Youfa W 2002 Is obesity associated with early sexual maturation? A comparison of the association in american boys versus girls. *Pediatrics* **110**:903-10.
- [33] Kimm SY, Barton BA, Obarzanek E, McMahon RP, Kronsberg SS, Wacławski MA 2002 Obesity development during adolescence in a biracial cohort: the NHLBI growth and health study. *Pediatrics* **110**: e 54.

- [34] Currey, JD 2001 Bone strength: what are we trying to measure?. *Calcif Tissue Int* **68**:205-10.
- [35] Wüster C, Hadji P 2001 Use of quantitative ultrasound densitometry QUS in male osteoporosis. *Calcif Tissue Int* **69**:225-8.
- [36] Baroncelli GI 2008 Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application. *Pediatr Res* **63**:220-8.
- [37] Baroncelli GI, Bereket A, El Kholy M, Audi L, Cesur Y, Ozkan B, Rashad M, Fernández-Cancio M, Weisman Y, Saggese G, Hochberg Z 2008 Rickets in the Middle East: role of environment and genetic predisposition. *J Clin Endocrinol Metab* **93**: 1743-1750.
- [38] Leonard MB, Shults J, Zemel BS 2006 DXA estimates of vertebral volumetric bone mineral density in children: potential advantages of paired posteroanterior and lateral scans. *J Clin Densitom* **9**:265-73.
- [39] Lage AZ, Brandão CA, Mendes JR, Huayllas MK, Liberman B, Mendonça BB, Costa EM, Verreschi IT, Lazaretti-Castro M 2005 High degree of discordance between three-dimensional and two-dimensional lumbar spine bone mineral density in Turner's syndrome. *J Clin Densitom* **8**:461-6.
- [40] Bell NH, Shary J, Stevens J, Garza M, Gordon L, Edwards J 1991 Demonstration that bone mass is greater in black than in white children. *J Bone Miner Res* **6**:719–723.
- [41] Nelson DA, Simpson PM, Johnson CC, Barondess DA, Kleerekoper M 1997 The accumulation of whole body skeletal mass in third- and fourth-grade children: effects of age, gender, ethnicity, and body composition. *Bone* **20**:73–78.
- [42] Rupich RC, Specker BL, Lieuw AF, Ho M 1996 Gender and race differences in bone mass during infancy. *Calcif Tissue Int* **58**:395–397.

Table 1- Data for age, weight, height, sum of the bone diameters, body mass index, fat percentage, fat and lean mass, according to gender and color of skin.

Variables	Female		Male	
	White	Black	White	Black
	(n=445)	(n=251)	(n=395)	(n=265)
	M±SD	M±SD	M±SD	M±SD
Age in years	8.4±1.5	8.6±1.6	8.3±1.5	8.6±1.5
z Weight	-0.05±0.7	-0.04±0.7	-0.12±0.8	0.09±0.8 ^a
z Height	-0.06±0.9	0.00±0.9	-0.15±0.9	0.27±1.0 ^a
∑ Bone diameter in cm	16.5±1.2	16.8±1.3	17.2±1.3	17.3±1.3
z BMI	-0.01±0.7	-0.04±0.7	-0.04±0.7	-0.03±0.7
Fat percentage	22.1±5.3	22.2±5.2	14.8±5.4	14.6±5.6
Fat Mass in kg	6.3±3.0	6.5±3.2	4.4±2.4	4.3±3.9
Lean Mass in kg	21.0±4.2	21.6±4.5 ^a	23.4±3.9	23.2±3.9

M = mean; SD = standard-deviation;

^a $p \leq 0.05$: difference between color of skin: same gender; Mann-Whitney test

Table 2- Data for AD-SoS bone quantity according to age, pubertal stages, gender and skin color.

AD-SoS in m/s								
		Female				Male		
Age in		White		Black		White		Black
years	n	M±SD	n	M±SD	n	M±SD	n	M±SD
6 7	51	1,893.9±57.4	29	1,886.1±82.2	57	1,892.7±45.6 ^a	24	1,850.3±101.0
7 8	87	1,909.7±61.2 ^a	43	1,870.5±67.5	76	1,888.4±58.9	46	1,875.5±65.2
8 9	88	1,914.8±43.7	47	1,917.0±65.1	79	1,894.6±63.3 ^a	57	1,868.5±78.3
9 10	101	1,932.4±52.7 ^a	34	1,892.7±66.0	71	1,914.2±59.7	36	1,903.6±52.6
10 11	85	1,947.2±49.2	65	1,932.1±64.0	87	1,925.2±45.1 ^a	63	1,894.9±63.9
11 12	33	1,959.9±41.8 ^a	33	1,940.7±31.3	25	1,906.6±84.8	39	1,922.2±63.1
Pubertal stage								
I	241	1,911.4±53.2 ^a	135	1,889.2±73.7 ^a	273	1,896.1±57.4 ^a	189	1,876.9±75.3 ^a
II and III	182	1,938.4±55.7 ^a	99	1,925.9±54.2 ^a	112	1,923.4±60.3 ^a	70	1,911.1±58.7 ^a
IV and V	29	1,959.9±36.6	21	1,946.2±57.7	2	1,977.50±15.9	3	1,986.6±48.4

M= mean; SD = standard-deviation;

^a $p \leq 0.05$: Difference between color of skin: same gender and age; Mann-Whitney test

Table 3- Data for UBPI bone quality according to age, pubertal stages, gender and skin color.

UBPI								
	Female				Male			
	White		Black		White		Black	
Age in years	n	M±SD	n	M±SD	n	M±SD	n	M±SD
6 7	51	0.56±0.18	29	0.55±0.23	57	0.51±0.15	24	0.43±0.21
7 8	87	0.58±0.19 ^a	43	0.45±0.19	76	0.49±0.16 ^a	46	0.42±0.15
8 9	87	0.51±0.15	47	0.46±0.16	79	0.46±0.14	57	0.41±0.16
9 10	101	0.57±0.16 ^a	33	0.48±0.18	71	0.52±0.15	36	0.47±0.14
10 11	85	0.59±0.17	65	0.54±0.18	87	0.54±0.15 ^a	63	0.47±0.17
11 12	33	0.61±0.17	33	0.66±0.13	25	0.50±0.19	39	0.52±0.17
Pubertal stage								
I	241	0.55±0.17 ^a	135	0.47±0.19 ^a	273	0.49±0.15 ^a	189	0.43±0.17 ^a
II and III	182	0.57±0.17 ^a	99	0.57±0.16 ^a	112	0.53±0.16 ^a	70	0.50±0.17 ^a
IV and V	29	0.64±0.14	21	0.58±0.21	2	0.65±0.18	3	0.67±0.09

M = mean; SD = standard-deviation;

^a p ≤ 0.05: Difference between color of skin: same gender and age; Mann-Whitney test

Table 4- Correlation coefficient between AD-SoS quantity and UBPI bone quality in relation to the weight, height, sum of bone diameters Σ DO, BMI, fat percentage, fat mass, lean mass, age, gender, socioeconomic level, skin color and pubertal stage.

	AD-SoS in m/s	UBPI
Weight in kg	0.26 ^a	0.18 ^a
Height in m	0.35 ^a	0.16 ^a
ΣDO in cm	0.21 ^a	0.08 ^a
BMI in kg/m²	0.07 ^a	0.14 ^a
Fat in percentage	0.09 ^a	0.13 ^a
Fat mass in kg	0.17 ^a	0.17 ^a
Lean mass in kg	0.29 ^a	0.18 ^a
Age in years	0.32 ^a	0.13 ^a
Gender	-0.18 ^a	-0.18 ^a
Socioeconomic level	0.14 ^a	0.14 ^a
Skin color	0.09 ^a	0.17 ^a
Pubertal stage	0,32 ^a	0,19 ^a

Gender: Female = 0; Male = 1; Skin color; white = 0; black = 1;

^a $p \leq 0.05$ Pearson and Spearman tests

CAPÍTULO II

ARTIGO SUBMETIDO AO JOURNAL OF ULTRASOUND IN MEDICINE EM
16 DE NOVEMBRO DE 2008

BONE QUANTITY OF WHITE AND BLACK BRAZILIAN SCHOOLCHILDREN EVALUATED BY QUANTITATIVE ULTRASOUND OF PHALANGES: COMPARISON WITH EUROPEAN STUDIES

Roberto Regis Ribeiro*, Keila Donassolo Santos†, Everton Paulo Roman*,
Gil Guerra-Júnior*‡, Antonio de Azevedo Barros-Filho*

*Center of Investigation in Pediatrics – Department of Pediatrics – Faculty of Medical
Sciences – University of Campinas (UNICAMP) – Campinas – SP – Brazil

†Research Center of Physical Education in Kinanthropometry and Human
Performance – Federal University of Santa Catarina (UFSC) – Florianópolis – SC – Brazil

‡Address Correspondence:

Gil Guerra-Junior, MD, PhD

Department of Pediatrics

Faculty of Medical Sciences PO Box 6111

University of Campinas (UNICAMP)

Campinas – SP – Brazil Zip Code 13083-970

Phone: 55-19-3521-8923 Fax: 55-19-3521-8925

e-mail: gilguer@fcm.unicamp.br

Abstract

The objective of this study was to evaluate differences in bone quantity (AD-SoS) of healthy white and black schoolchildren, from 6 to 11 years of age of both genders, and to compare these values with European references. **Materials and Methods:** There were 1,356 children from different socioeconomic level, divided into white and black groups, from 6 to 11 years old and both genders. They were evaluated by weight, height and BMI. Bone quantity (AD-SoS) was evaluated by ultrasonography of the phalanges (DBM Sonic BP, IGEA, 3rd generation). **Results:** The white schoolchildren, when compared to the black, and the female gender in relation to the male, showed higher values of AD-SoS. Comparing AD-SoS from this study to the European references, lower values were observed for both genders and skin colors than in the Halaba study, and the values for the female were found to be similar to other references. The values for the male schoolchildren were similar to the values for the Baroncelli and Vignolo studies, and lower than those of the Ballester study. In **conclusion**, the bone quantities of schoolchildren in this study were higher from 6 to 11 years old for both genders and skin colors. The white female presented higher values of bone quantity in relation to the others groups. Brazilian schoolchildren of both genders and skin colors showed bone quantities lower than in the Polish study, similar to the three Italian studies, and in comparison to the Spanish study, the genders didn't show uniform results, whereas the female had similar results and the male had lower results.

Key words: Bone quantity, ultrasound, phalanxes, schoolchildren, ethnology.

Introduction

Studies have shown that the acquisition of bone mass is gradual in childhood and increases during adolescence, up to when sexual maturity is reached^{1,2}. Consequently, close observation of bone mass in adolescents is necessary in order to evaluate the risk of senior osteoporosis.

Several researchers adopted the premise that the group of curves in a specific population can be satisfactorily applied to any other population of study, independently of its genetic constitution^{3,4}. According to these authors, well nourished children and adolescents of different population groups seem to develop in a similar way, suggesting therefore, that genetic factors have less influence on development than the environmental factors. Even though this is an interesting idea, exceptions can limit its generalization.

Studies that have evaluated the levels of bone mineral among different skin colors verified that blacks showed higher values of bone mineral density when compared to whites and Asians, either in age as in body weight⁵⁻¹⁰ but etiology of this difference still remains unknown.

Therefore, the objective of this study is to evaluate differences in bone quantity in healthy white and black schoolchildren from 6 to 11 years old, of both genders, and to compare these values with European references.

Materials and Methods

This is a cross-sectional study with schoolchildren from six to eleven years of age, from both genders.

From a population of 1,576 schoolchildren that returned a signed term of consent informed signed (project approved by Ethics in Research Committee of Medical Sciences College of UNICAMP, number 557/2003), authorizing the participation in this study, 220 schoolchildren were excluded; 98 for presenting a different skin color to those of interest in the study (yellow or indigenous); 35 for having known chronic diseases, or for being physically deficient, or for presenting a medical history with restrictions or for being

under medication that affects the bone metabolism; and 87 with body mass index (BMI) over +2 SD or under -2 SD for their age and gender. Thus, the final sample for the study was made up of 1,356 schoolchildren.

The children were weighed in a Bio-Impedance (Tanita[®]) scale with range in Kg, wearing light clothes and being barefoot. Their height was measured in vertical stadiometer with range in cm. The Body Mass Index (BMI) was obtained by the relation between weight (Kg) and squared height (m²).

In relation to age and gender, for the calculation of the z score of the BMI, were used the data from National Center for Health Statistics¹¹. To define the normality deviations the values under -2 and over +2 of the z score were adopted as cut points.

For the measurement of the parameter the bone quantity (AD-SoS=Amplitude Dependent of Speed Sound) used was by 3rd generation DBM Sonic[®] BP IGEA ultrasound. This device possesses a compass that connects two 12mm-diameter transducers, an emitter and a receptor, with a high precision of ± 0.02 mm.

The compass is placed in the anatomical point of the distal metaphases of each of the last four proximal phalanges II to V on the non-dominant hand. The emitter transducer emits a sound wave of 1.25 MHz that transversally passes the constitutive elements of the bone tissue (cortical layer, micro-structures trabeculae and collagen), while the receptor transducer receives the signal and evaluates the speed of propagation of the sound through the phalanx^{12,13}.

AD-SoS, also called ultrasonography, represents bone quantity, is obtained automatically and represents 96 acquisitions of speed measurements of ultrasound (m/s) that, by transmission, tracks the trabeculas of the bone tissue on the four proximal phalanges. The values obtained from these measures range between 1,650 to 2,250 m/s. This parameter depends on the amplitude of the electrical signal, obtained after the ultrasound passes through the three types of bones of the phalanges (endosteal, trabecular and cortical). In the evaluation of the electrical register, the amplitude of the signal is only

considered when a minimum value is reached, called the threshold level or the trigger level¹².

The mean values of AD-SoS of this study were compared to five references which show normative values for children and adolescents¹²⁻¹⁶ (**Chart 1**).

It was required for the parents or guardians to declare the skin color of their children. All school aged children who were declared white, black or mulattos were considered eligible to participate in this study, where black and mulattos colored skins were combined into one group called “black”. This procedure of combining is also used by the Brazilian government in demographic studies¹⁷.

Descriptive analysis was used in the statistic treatment, in regards to the data, with values of absolute frequency, relative, mean, standard deviation and the construction of tables and graphs. For the comparison variable AD-SoS of the schoolchildren, of both genders and skin colors (skin colors) in relation to the references, it was run through the Student t test that compares two means, the reference one of them. To diminish type I errors caused by the large number of tests run for each age, gender and skin color, the alpha value was reduced, from $p \leq 0.05$ to $p \leq 0.01$ to identify the possible differences. To compare age, between genders and skin colors, with variable AD-SoS, variance analysis using the program SPSS for Windows 13.0.

Results

Were evaluated 1,356 schoolchildren from ages six to eleven, both genders with skin colors of white, black and mulattos. From the total, 161 (11.9%) were 6 years old, 252 (18.6%) were 7 years old, 271 (20.0%) were 8 years old, 242 (17.8%) were 9 years old, 300 (22.1%) were 10 years old and 130 (9.6%) were 11 years old; 696 (51.3%) were female and 660 (48.7%) were male; and 840 (61.9%) were white, 215 (15.9%) were black and 301 (22.2%) were mulattos. Because the smallest number of evaluated schoolchildren were in the black group at all age levels, but mainly between 6 and 7 years old, it was decided to gather blacks and mulattos into a single variable, now called “black”. **Table 1** shows the

values for the means and the standard deviations of the variation of the bone quantities of the subjects of this study.

Figures 1 and 2 show mean values of AD-SoS of the schoolchildren from 6 to 11 years old, both genders and skin colors of this study and of the references. A crescent gradient was observed for AD-SoS with the increase of age for schoolchildren of both genders and skin colors (white: male $p=0.000$; female $p=0.027$ and black: male $p=0.035$; female $p=0.000$), the percentage values of the variations from 6 to 11 years were 1.7% and 3.9% for boys and 3.5% and 2.8% for girls of white and black skin color, respectively.

Upon comparing the means of AD-SoS of females of both skin colors to the references, similar values were observed to the studies of Baroncelli et al¹² and Ballester et al¹³, with exceptions in the 7 year old age group ($p=0.001$), there were higher values for the whites and for the 9 year olds ($p=0.001$) lower values for the blacks in relation to the two references and to the 11 year olds ($p=0.000$) with the study of Ballester et al¹³.

In relation to the two studies from Vignolo et al^{14,15}, the means of this study were higher for white females in the 8 year old age group ($p=0.000$) and 10 year old ($p=0.001$) and for blacks in the 8 year old group ($p=0.005$) versus the 2003 study. Lower values were observed only in black females from the age groups of 7 ($p=0.004$) and 9 year olds ($p=0.005$) in relation to the 2003 study, and the 11 year olds ($p=0.000$) for both studies. In relation to the Halaba¹⁶ study, the means from this study were significantly lower, with exceptions in the 7 year old group ($p=0.032$) and ten year olds ($p=0.204$) white females, and for 8 year old ($p=0.065$) for black females (similar values).

In **Figure 2** when the means of AD-SoS for male schoolchildren of both skin colors were compared to the references, it was observed for both skin colors, similar values to the studies of Baroncelli et al¹² and to the two studies of Vignolo et al^{14,15}, with exceptions in the 8 year old age group (Baroncelli: whites: $p=0.001$ and blacks: $p=0.001$ and Vignolo: blacks $p=0.001$) and ten year olds (Baroncelli: blacks $p=0.000$) the values of this study were lower.

In relation to the studies of Ballester et al¹³, this study showed lower values for both skin colors in the majority of the age groups (whites: 6 year olds ($p=0.001$), 7 year olds ($p=0.000$), 8 year olds ($p=0.001$), and 9 year olds ($p=0.005$); blacks: 6 year olds ($p=0.005$), 7 year olds ($p=0.000$), 8 year olds ($p=0.000$), 9 year olds ($p=0.000$) and 10 year olds ($p=0.000$), and in all age groups when compared to the Halaba¹⁶ study ($p=0.000$) (Figure 2).

Discussion

Brazil may be the most racially miscegenation, because Europeans of the white skin color, Africans of the black skin color, Asians of the yellow skin color and indigenous peoples of Brazil participated in the process of the formation of this country. The mixing was and continues to be intense since the beginning of colonization. The small number of white women among the Portuguese colonizers led them to have relations with Indians and black slaves. This mixing gave rise to other racial groups such as mulatto, which is the mix of white and black; the caboclo or mameluco, the mix of white and Asian; the cafuzo, black and Asian. The peoples, who came to Brazil later, besides having, in many cases, remained in closed communities, also mixed¹⁸.

This way, miscegenation in Brazil is an aspect that must always be considered in racial analysis^{19,20}. For the Racial classification in demographic studies the analysis adopted by Instituto Brasileiro de Geographia e Estatistica – IBGE has been taken as official since 1991. This classification uses self declaration in the collection of data, that is, the person chooses from a list five racial categories (white, black, mulattos, yellow and indigenous peoples)¹⁷.

In order to identify differences in bone quantity among the skin colors, it was verified that blacks and mulattos have similarities and the differ from the whites, this way, the strategy of combining blacks and mulattos, mentioned earlier, was also used for this study, which combined 215 self-declared blacks with 301 self-declared mulattos, into a single category called “blacks”.

Studies done in other countries, using the DEXA method, observed that black children and adolescents showed from 5% to 23% higher bone mineral density in relation to other skin colors^{21,22} and that the loss of bone tissue in adults is twice as small in relation to the whites^{5,22}.

In children, the results around these differences are controversial, some researchers^{22,23} observed more bone mass in blacks, differently than others²⁴, however, no study observed higher values for whites. These authors justified the higher bone content observed in blacks by reason that black children reach puberty around one or two years earlier compared to other skin colors, and this would be related, probably, to the increase of bone absorption, just as well as in all variables of growth and development. Another explanation would be in relation to bone metabolism, where blacks would have better efficiency in absorption and retaining calcium^{25,26}.

This study observed diverging results from all the other studies in relation to differentiation between skin colors (blacks and whites), where higher values were observed in white schoolchildren.

The bone content is related to many factors, such as, heredity, skin color, geographic region, life style and nutrition^{25,26}. Even though this study didn't evaluate food ingestion and some chemical markers, important variables for a better comprehension of bone metabolism²⁵⁻²⁷, following the hypothesis that the children in this study, of black skin color, showed low ingestion of proteins, calcium and phosphorus, essential nutrients in growth and development, because they belong to a lower socioeconomic group than the whites.

The exposure to the sun is determined by the body area exposed and by geographic localization²⁸. Melanin being a natural protection from the sun, people with dark skin from the same geographic location, than people with white skin, need more time exposed to the sun to produce adequate quantities of vitamin D.

In European countries, such as Italy, Spain and Poland, that have North latitudes farther from the equator, where the angle of sun penetration is higher in winter allowing sun rays to penetrate the atmosphere at a more oblique angle, the cutaneous

production of vitamin D drops significantly, and in the summer the quantity of ultraviolet rays that reach the Earth is only sufficient to produce vitamin D during a few hours a day²⁹.

Even though Brazil shows incidences of ultraviolet rays more adequate for bone health, than Spain, Italy or Poland, it was observed for both genders and skin colors, similar values of AD-SoS to the Italian studies, lower values to the Polish study and for the Spanish study, boys showed lower values and girls showed similar values.

Ultrasonography has been incorporated as an important tool to help in the diagnosis of bone problems. But, for this, it is necessary to have a better understanding of the phenomenon of ultrasonic wave propagation in bone tissue, through the establishment of relations between several variables involved³⁰.

Ultrasound does not measure the bone density in mass per unit of area, as in densitometry (g/cm^2), nor in mass per unit of volume, as computerized tomography (g/cm^3). In reality, what is measured is the speed of ultrasonic propagation through the bone, being calcaneous, tibia or phalanges, wide band ultrasonic attenuation that measures the percentage of sound waves absorbed by the body as it passes through it. These ultrasonic standards vary according to the variation of density, structure, elasticity and other bio-mechanical alterations of the bone³¹.

This indicates that the increments in the values of AD-SoS observed in the studies, during childhood and adolescence can be a reflection of greater density or changes in the structural architecture of bone tissue. Baroncelli et al¹², observed crescent variations from 3 to 21 years old in both genders in the AD-SoS, the percentage values of these variations were 14.8% for boys and 13.9% for girls. From 6 to 11 years old, the variations in the AD-SoS, according to the references were between 1% to 3.4% for boys and from 2.8% to 4.6% for girls¹²⁻¹⁶.

Our study observed similar results for both genders and skin colors, where AD-SoS increased with age, and percentage values of variations were 1.7% to 3.9% for boys and 3.5% to 2.8% for girls of white and black skin color, respectively.

Studies comparing AD-SoS between genders, showed similar values in the first years of life, until the ages of 9 and 10, being higher for girls during puberty from 10 to 14 years old, differences not being observed from 15 and 16 years old and on^{12,13}. Being so, schoolchildren of this study shouldn't show differences in bone mass, however, higher values were observed in white girls of ages 7, 8 and 11 and when combining the ages the differences were higher for black and white girls.

The explanatory hypothesis of differences found between genders could be due to sexual maturity, because girls, on mean, go through puberty about 1.5 to 2 years before boys³², being that in this phase the sexual hormones (estrogen) produced by the ovaries, are stimulated by the follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) released by the anterior part of the hypophysis, which initiates sexual maturation.

Estrogen has an important impact on skeletal mineralization, being essential in the acquisition of bone mass during puberty. This was demonstrated by Boot et al³³ in a study evaluating 295 females from 4 to 20 years old, comparing adolescence in the same age that had showed at the onset of menstruation and regular menstrual cycles, they themselves, had higher values of density and bone mineral volume in relation to the adolescents that had not begun their menstrual cycles or with irregular cycles.

Even though there is the existence of some limitations in this study, such as cross-sectional, lack of information about food habits, level of physical activity and the non-determination of sexual maturity, these studies are important for the understanding of the long process of bone maturation that occurs in childhood and adolescents, allowing to identify passive factors of some intervention and to create strategies to prevent early osteoporosis. If the gain of bone mineral could be optimized during growth and development, it is probable that the adult would be less susceptible to suffer the complications of osteoporosis.

These results can be used to build a database to be applied in the study of bone mass development in children. With the application of this method of bone evaluation it is possible to differentiate years ahead inadequacies in bone mass and evaluate in the short term the answers to the different interventions in the accompaniment of the population

masses, which certainly will contribute in the reduction of occurrences of osteoporosis and fractures.

In conclusion, the bone quantities of schoolchildren in this study were higher from 6 to 11 years old for both genders and skin colors. The white female presented higher values of bone quantity in relation to the others groups. Brazilian schoolchildren of both genders and skin colors showed bone quantities lower than in the Polish study, similar to the three Italian studies, and in comparison to the Spanish study, the genders didn't show uniform results, whereas the female had similar results and the male had lower results.

Acknowledgements

The authors are thankful the headmasters, schools teachers and parents who gave their consent to the study and also to all the staff that helped in data collecting. This study was supported by Coordenacao de Aperfeicoamento de Pessoal de Nivel Superior (CAPES).

References

1. Mora S, Gilsanz V. Establishment of peak bone mass. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003; 32:39-63.
2. Silva CC, Goldberg TBL, Teixeira AS, Dalmas JC. Bone mineralization among male adolescents: critical years for bone mass gain. *J Pediatr* 2004; 80:461-467.
3. Habicht JP, Martorell R, Yarbrough G, Klein RE, Malina RM. Height and weight standards for preschool children: how relevant are ethnic differences in growth potential? *Lancet* 1974; 1:611-615.
4. World Health Organization Working Group. Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. *Bulletin of World Health Organization* 1986; 64: 929-941.
5. Cauley JA, Lui LY, Stone KL, et al. Longitudinal study of changes in hip bone mineral density in Caucasian and African-American women. *J Am Geriatr Soc* 2005; 53:183-189.
6. Neuner JM, Zhang X, Sparapani R, Laud PW, Nattinger AB. Racial and socioeconomic disparities in bone density testing before and after hip fracture. *J Gen Intern Med* 2007; 22:1239-1245.
7. Leder BZ, Araujo AB, Travison TG, McKinlay JB. Racial and ethnic differences in bone turnover markers in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:3453-3457.
8. Travison TG, Araujo AB, Esche GR, McKinlay JB. The relationship between body composition and bone mineral content: threshold effects in a racially and ethnically diverse group of men. *Osteoporos Int* 2008a; 19:29-38.
9. Travison TG, Beck TJ, Esche GR, Araujo AB, McKinlay JB. Age trends in proximal femur geometry in men: variation by skin color and ethnicity. *Osteopros Int* 2008b; 19:277-287.

10. Hill DD, Cauley JA, Sheu Y, et al. Correlates of bone mineral density in men of African ancestry: The Tobago Bone Health Study. *Osteoporos Int* 2008; 19:227-234.
11. NCHS - National Center for Health Statistics, 2000. Available at: <http://www.cdc.gov/growthcharts>.
12. Baroncelli GI, Federico G, Bertelloni S, de Terlizzi F, Cadossi R, Saggese G. Bone quality assessment by quantitative ultrasound of proximal phalanges of the hand in healthy subjects aged 3–21 years. *Pediatr Res* 2001;49:713-718.
13. Ballester JG, San Julián y L CA, Ariznabarreta S. Bone mineral density determination by osteosonography in healthy children and adolescents: normal values. *An Esp Pediatr* 2001; 54:540-546.
14. Vignolo M, Brignone A, Mascagni A, Ravera G, Biasotti B, Aicardi G. Influence of Age, Sex, and Growth Variables on Phalangeal Quantitative Ultrasound Measures: A Study in Healthy Children and Adolescents. *Calcif Tissue Int* 2003; 72:681-688.
15. Vignolo M, Parodi A, Mascagni A, Torrisi C, Terlizzi F de, Aicardi G. Longitudinal assessment of bone quality by quantitative ultrasonography in children and adolescents. *Ultrasound in Med Biol* 2006; 32:1003-1010.
16. Halaba ZP. Quantitative Ultrasound Measurements at Hand Phalanges in Children and Adolescents: A Longitudinal Study. *Ultrasound Med Biol* 2008; 34:1547-1553.
17. INEP – Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira. Mostre sua raça, declare sua cor, 2005. Available at: http://inep.gov.br/impressa/noticias/censo/escolar/news05_05.htm.
18. Pena, SDJ, Bortolini MC. Pode a genética definir quem deve se beneficiar das cotas universitárias e demais ações afirmativas? *Estud Av* 2004; 18:31-50.
19. Telles E. *Racismo à brasileira: uma nova perspectiva sociológica*. Rio de Janeiro: Relume Dumará, Fundação Ford; 2003.

20. Oliveira F. Ser negro no Brasil: alcances e limites. *Estud Av* 2004; 18:57-60.
21. Gilsanz V, Skaggs DL, Kovanlikaya A, et al. Differential effect of skin color on the axial and appendicular skeletons of children. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:1420-1427.
22. Nelson DA, Simpson PM, Johnson CC, Barondess DA, Kleerekoper M. The accumulation of whole body skeletal mass in third- and fourth-grade children: effects of age, gender, ethnicity, and body composition. *Bone* 1997; 20:73-78.
23. Bell NH, Shary J, Stevens J, Garza M, Gordon L, Edwards J. Demonstration that bone mass is greater in black than in white children. *J Bone Miner Res* 1991; 6:719-723.
24. Rupich RC, Specker BL, Lieu AF, Ho M. Gender and skin color differences in bone mass during infancy. *Calcif Tissue Int* 1996; 58:395-397.
25. Abrams AS, O'brien KO, Liang LK, Stuff JE. Differences in calcium absorption and kinetics between black and white girls aged 5-16 years. *J Bone Miner Res* 1995; 10:829-833.
26. Bryant RJ, Wastney ME, Martin BR, et al. Racial differences in bone turnover and calcium metabolism in adolescent females. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1043-1047.
27. Jaime PC, Latorre MRDO, Florindo AA, Tanaka T, Zerbini CAF. Dietary intake of Brazilian black and white men and its relationship to the bone mineral density of the femoral neck. *São Paulo Med J* 2006; 124:267-270.
28. Aitken JM, Anderson JB, Horton PW. Seasonal variations in bone mineral content after the menopause. *Nature* 1973; 241:59-60.
29. Bhattoa HP, Bettembuk P, Ganacharya S, Balogh A. Prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in community dwelling postmenopausal Hungarian women. *Osteoporos Int* 2004; 15:447-451.

30. Duke FA. Hazards, risks and safety of diagnostic ultrasound. *Med Eng Phys.* 2008; 30:1338-1348.
31. Wüster C, Albanese C, De Aloysio D, et al. Phalangeal osteosonogrammetry study: age-related changes, diagnostic sensitivity, and discrimination power. *J Bone Miner Res* 2000; 15:1603-1614.
32. Dib L, Arabi A, Maalouf J, Nabulsi M, Fuleihan GEH. Impact of anthropometric, lifestyle, and body composition variables on ultrasound measurements in school children. *Bone* 2005; 36:736-742.
33. Boot AM, Ridder MAJ, Pols HAP, Krenning EP, Muinck Keizer-Schrama MPF. Bone Mineral density in children and adolescents: Relation to puberty, calcium Intake, and physical activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:57-62.

Chart 1- Mean values of bone quantity (AD-SoS) of references, for the ages of interest in this study.

	References Age - Country	Gender (n)	Age (years)					
			6	7	8	9	10	11
Longitudinal	Halaba et al 2008	M (130)	-	1915,0	1939,0	1949,0	1967,0	1965,0
	7-12 years - Poland	F (139)	-	1924,0	1935,0	1961,0	1954,0	1988,0
	Vignolo et al 2006	M (290)	1898,4	1901,0	1913,9	1903,2	1920,6	1922,9
	3-16 years - Italy	F (299)	1882,1	1901,9	1901,9	1919,1	1912,9	1956,1
Cross sectional	Vignolo et al 2003	M (641)	1876,3	1889,1	1897,7	1905,6	1912,7	1914,0
	3-16 years - Italy	F (586)	1874,4	1898,0	1886,2	1927,0	1932,5	1961,4
	Balester et al 2003	M (469)	1914,0	1915,0	1920,0	1935,0	1932,0	1926,0
	6-18 years - Spain	F (360)	1914,0	1923,0	1924,0	1936,0	1955,0	1968,0
	Baroncelli et al 2001	M (587)	1883,5	1891,5	1924,2	1925,9	1928,4	1949,6
	3-21 years – Italy	F (496)	1883,6	1887,5	1907	1936,3	1944,6	1957,5

Table 1- Mean (M) and standard deviation (SD) of bone quantity (AD-SoS) according to age, gender and skin color of the schoolchildren.

AD-SoS (m/s)								
		Female				Male		
Age		White		Black		White		Black
(years)	n	M±SD	n	M±SD	n	M±SD	n	M±SD
6 7	51	1893,9±57,4	29	1886,1±82,2	57	1892,7±45,6	24	1850,3±101,0
7 8	87	1909,7±61,2	43	1870,5±67,5	76	1888,4±58,9	46	1875,5±65,2
8 9	88	1914,8±43,7	47	1917,0±65,1	79	1894,6±63,3	57	1868,5±78,3
9 10	101	1932,4±52,7	34	1892,7±66,0	71	1914,2±59,7	36	1903,6±52,6
10 11	85	1947,2±49,2	65	1932,1±64,0	87	1925,2±45,1	63	1894,9±63,9
11 12	33	1959,9±41,8	33	1940,7±31,3	25	1906,6±84,8	39	1922,2±63,1

Figure 1- Means of bone quantity (AD-SoS) of the female schoolchildren from 6 to 11 years old for both skin colors and of the 5 references.

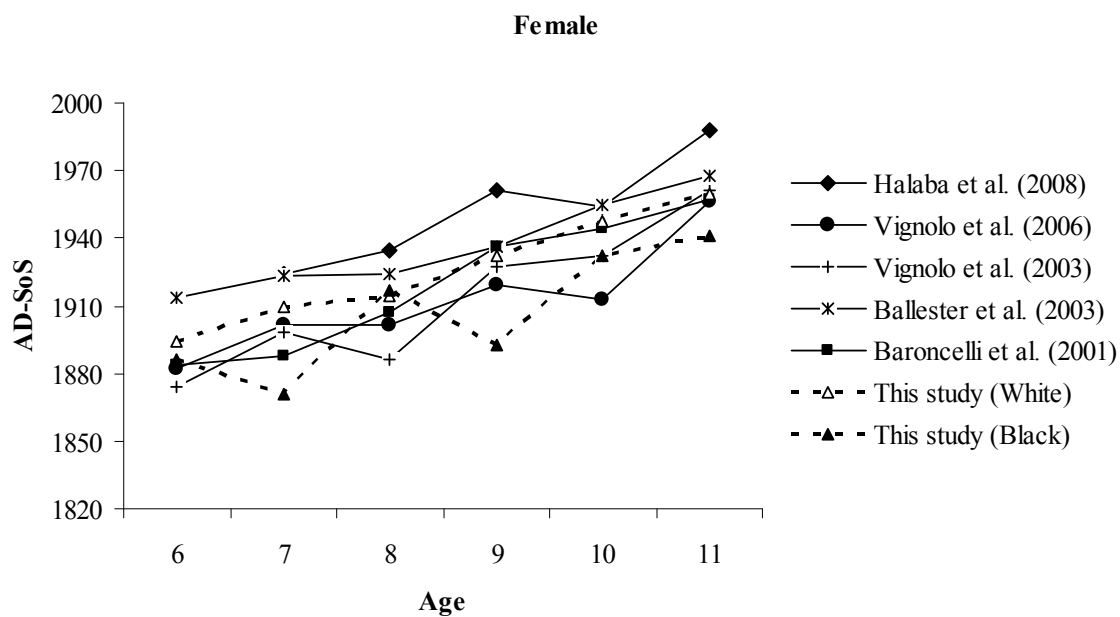
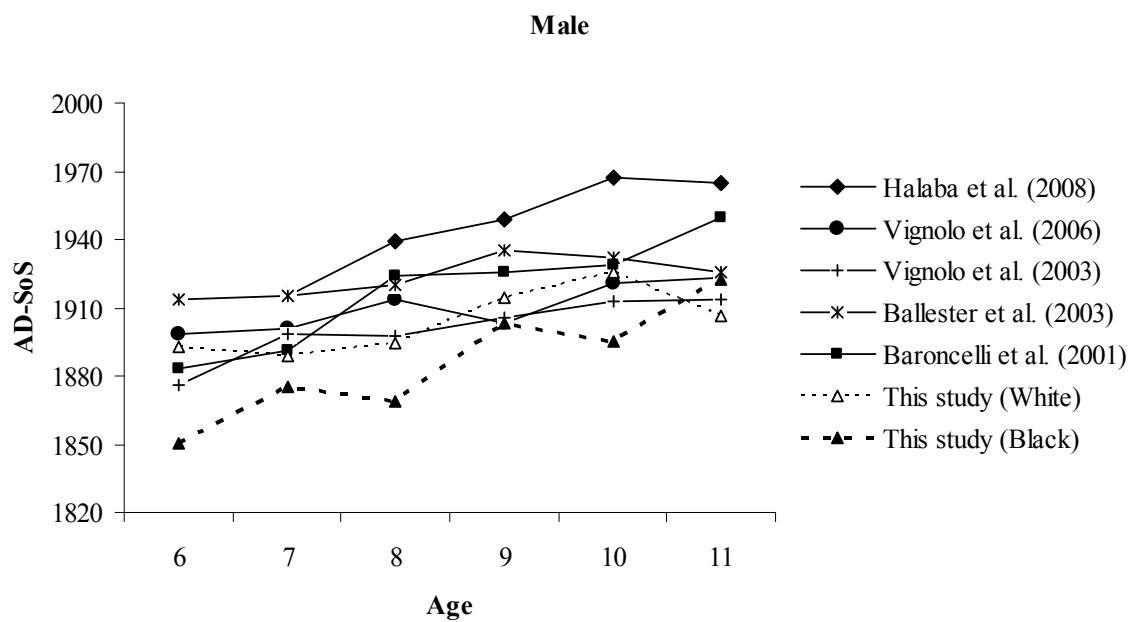


Figure 2- Means of bone quantity (AD-SoS) of the male schoolchildren from 6 to 11 years olds for both skin colors and of the five references.



CONCLUSÃO GERAL



O presente trabalho tem característica ímpar na literatura, por apresentar dados epidemiológicos de escolares Brasileiros saudáveis, brancos e negros, avaliando a massa óssea por meio da ultrassonografia de falanges em relação ao gênero, à idade, e, principalmente, à cor da pele.

Concluiu-se que os negros predominaram nos níveis socioeconômicos mais baixos, em relação à antropometria e à composição corporal, verificaram-se valores superiores de peso e estatura para os meninos negros e massa magra para as meninas negras em relação aos escolares brancos de mesmo gênero e idade. Na comparação da massa óssea, observou-se variação crescente dos seis aos onze para ambos os gêneros e cor da pele na quantidade óssea (AD-SoS), e os escolares brancos apresentaram valores superiores de massa óssea (AD-SoS e UBPI) em relação aos negros.

As variáveis antropométricas, o gênero e o nível socioeconômico explicaram apenas 17 e 11% da variabilidade de quantidade (AD-SoS) e qualidade (UBPI) óssea, respectivamente.

Comparando a quantidade óssea (AD-SoS) deste estudo com os estudos europeus, observou-se que os escolares de ambos os gêneros e cores de pele, apresentaram quantidade óssea inferior ao estudo polonês, similar aos três estudos italianos e em relação ao estudo espanhol os gêneros não apresentaram uniformidades, onde as meninas apresentam similitudes e os meninos valores inferiores.

Sendo assim, estes dados podem estar refletindo as diferentes características socioeconômicas e de miscigenação racial que ocorrem no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



1. Abrams AS, O'Brien KO, Liang LK, Stuff JE. Differences in calcium absorption and kinetics between black and white girls aged 5-16 years. *J Bone Miner Res* 1995;10(5): 829-33.
2. Aitken JM, Anderson JB, Horton PW. Seasonal variations in bone mineral content after the menopause. *Nature* 1973;5(241):59-60.
3. Associação Nacional de Empresas de Pesquisa – ANEP. Critério de Classificação Econômica – Brasil. Available at: <http://www.anep.org.br/mural/anep/04-12-97-cceb.htm>. Accessed March 05, 2003.
4. Bachrach, LK. Bone mineral acquisition in healthy Asian, Hispanic, Black, and Caucasian youth: a longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metabol* 1999;8(12):4702-12.
5. Ballester JG, San Julián y L CA, Ariznabarreta S. Bone mineral density determination by osteosonography in healthy children and adolescents: normal values. *An Esp Pediatr* 2001;54(6):540-6.
6. Barata RR, Almeida MF, Montero CV, Silva ZP. Health inequalities based on ethnicity in individuals aged 15 to 64, Brazil, 1998. *Cad Saude Publica* 2007;23(2):305-13.
7. Baroncelli GI, Federico G, Bertelloni S, de Terlizzi F, Cadossi R, Saggese G. Bone quality assessment by quantitative ultrasound of proximal phalanxes of the hand in healthy subjects aged 3–21 years. *Pediatr Res* 2001;49(5):713-8.
8. Baroncelli GI, Federico G, Vignolo M, Valerio G, Del Puente A, Maghnie M, et al. Cross-sectional reference data for phalangeal quantitative ultrasound from early childhood to young-adulthood according to gender, age, skeletal growth, and pubertal development. *Bone* 2006;39(1):159-73.
9. Baroncelli GI. Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application. *Pediatr Res* 2008; 63(3):220-8.

10. Baroncelli GI, Bereket A, El Kholy M, Audì L, Cesur Y, Ozkan B, et al. Rickets in the Middle East: role of environment and genetic predisposition. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(5):1743-50.
11. Bauer DC, Glüer CC, Genant H. Quantitative Ultrasound and vertebral fracture in postmenopausal women. *J Bone Min Res* 1995;10(3): 346-52. J
12. Bell NH, Shary J, Stevens J, Garza M, Gordon L, Edwards J. Demonstration that bone mass is greater in black than in white children. *J Bone Miner Res* 1991;6(7):719–23.
13. Bhattoa HP, Bettembuk P, Ganacharya S, Balogh A. Prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in community dwelling postmenopausal Hungarian women. *Osteoporos Int* 2004;15(6):447-51.
14. Boehmer U, Kressin NR, Berlowitz DR, Christiansen CL, Kazis LE, Jones JA. Self-reported vs. administrative race/ethnicity data and study results. *Am J Public Health* 2002;92(9):1471-3.
15. Boot AM, Ridder MAJ, Pols HAPP, Krenning EP, Muinck Keizer-Schrama MPF. Bone Mineral density in children and adolescents: Relation to puberty, calcium Intake, and physical activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(1):57-62
16. Brandão CMA. Avaliação da densidade mineral óssea durante a puberdade em crianças normais de São Paulo. Influência de fatores antropométricos, composição corporal e do SDHEA na massa óssea [Tese-Doutorado]. São Paulo (SP): Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 1999.
17. Brandão CMA, Vieira, JGH. Fatores envolvidos no pico de massa óssea. *Arq Bras Endocrinol Metab* 1999;46(6):401-8.
18. Bryant RJ, Wastney ME, Martin BR, Wood O, McCabe GP, Mordhidi M, Smith DL, Peacock M, Wever CM. Racial differences in bone turnover and calcium metabolism in adolescent females. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(3):1043-7.

19. Campos LMA, Liphaus1BL, Silva CAA, Pereira RMR. Osteoporose na infância e na adolescência. *J Pediatr* 2003;79(6):481-8.
20. Canhão H, Fonseca JE, Queiroz MV. Diagnóstico e terapêutica da osteoporose na idade pediátrica. *Acta Med Port* 2004;17:385-90.
21. Carvalho-Silva DR, Santos FR, Rocha J, Pena SDJ. The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. *Am J Hum Genet* 2001;68(1):281-6.
22. Carrascosa A, Gussinyé M, Yeste D, del Rio L, Audí L, Enrubia M, et al. Skeletal mineralization during infancy, childhood and adolescence in the normal population and in populations with nutritional and hormonal disorders. Dual X-ray absorptiometry (DEXA) evaluation. In: Schönau E. *Paediatric Osteology* Amsterdam: Elsevier; 1996. p.93-102.
23. Cauley JA, Lui LY, Stone KL, Hillier TA, Zmuda JM, Hochberg M, et al. Longitudinal study of changes in hip bone mineral density in Caucasian and African-American women. *J Am Geriatr Soc* 2005;53(2):183-9.
24. ChanYY, Bishop NJ. Clinical management of childhood osteoporosis. *Int J Clin Pract* 2002;56(4):280-6.
25. Chor MM, Monteiro S, Chor D, Faerstein E, Lopes CS. Ethnicity/race in the Pró-Saúde Study: comparative results of two methods of self-classification in Rio de Janeiro, Brazil. *Cad Saúde Pública* 2005;21(1):171-80.
26. Cigolini AA. A fragmentação do território em unidades político-administrativas: análise da criação de municípios no Estado do Paraná. [Dissertação] Florianópolis (SC): Universidade Federal de Santa Catarina; 1999.
27. Cummings SR, Black D. Bone mass measurements and risk of fracture in Caucasian women: a review of findings from prospective studies. *Am J Med* 1995;98(2A): 24S-8S.
28. Currey JD. Bone strength: what are we trying to measure? *Calc Tis Int* 2001; 68(4): 205-10.

29. Delezé M, Cons-Molina F, Villa AR, Morales-Torres J, Gonzalez-Gonzalez JG, Calva JJ, et al. Geographic differences in bone mineral density of Mexican women. *Osteoporos Int* 2000;11(7):562-9.
30. Dib L, Arabi A, Maalouf J, Nabulsi M, Fuleihan GEH. Impact of anthropometric, lifestyle, and body composition variables on ultrasound measurements in school children. *Bone* 2005;36(4):736-42.
31. Duke FA. Hazards risks and safety of diagnostic ultrasound. *Med Eng Phys*. 2008;30(10):1338-48.
32. Farmer MM, Ferraro KF. Are racial disparities in health conditional on socioeconomic status? *Soc Sci Med* 2005;60(1):191-204.
33. Fässler ALC, Bonjour JP. Osteoporosis as a pediatric problem. *Pediatric Clin North Am* 1995;42(4):811-24.
34. Fonseca ASM, Szejnfeld VL, Terreri MT, Goldenberg J, Ferraz MB, Hilário MOE. Bone mineral density of the lumbar spine of Brazilian children and adolescents aged 6 to 14 years. *Braz J Med Biol Res* 2001;34(3):347-52.
35. Frazão P, Naveira M. Prevalência de osteoporose: uma revisão crítica. *Rev Bras Epidemiol* 2006;9(2):206-14.
36. Fuchs SC, Victora CG, Wannmacher L, Gonçalves C, Barbosa A, Menta L, et al. Reliability of environmental, biological and health characteristics of infants from developing country. *Int J Epidemiol* 1996;25(5):1005-8.
37. Fuchs SC, Guimarães SM, Sortica C, Wainberg F, Dias KO, Ughini M, et al. Reliability of race assessment based on the race of the ascendants: a cross-sectional study. *BMC Public Health* 2002;2:1-5.
38. Gilsanz V, Skaggs DL, Kovanlikaya A, Sayre J, Loro ML, Kaufman F, et al. Differential effect of race on the axial and appendicular skeletons of Children. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(5):1420-27.

39. Goulding A, Taylor RW, Jones IE, McAuley KA, Manning PJ, Williams SM. Overweight and obese children have low bone mass and area for their weight. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24 (5): 627-632.
40. Gowin W, Felsenberg D. Methods in osteodensitometry. In: Schönau, E. *Paediatric Osteology*. Amsterdam: Elsevier; 1996. p.73-81.
41. Habicht JP, Martorell R, Yarbrough G, Klein RE, Malina RM. Height and weight standards for preschool children: how relevant are ethnic differences in growth potential? *Lancet* 1974;1(7858):611-5.
42. Halaba ZP. Quantitative Ultrasound Measurements at Hand Phalanges in Children and Adolescents: A Longitudinal Study. *Ultrasound Med Biol* 2008;34(10):1547-53.
43. Hans D, Wu C, Njeh CF, Zhao S, Augat P, Newitt D, et al. Ultrasound velocity of trabecular bones reflects mainly bone density and elasticity. *Calcif Tissue Int* 1999; 64(1):18-23.
44. Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Markus R, Maltrovic V, et al. Peak bone mass. *Osteoporosis Inter* 2000;11(12):985-1009.
45. Herman-Giddens ME, Slora EJ, Wasserman RC, Bourdony CJ, Bhapkar MV, Koch GG, et al. Secondary sexual characteristics and menses in young girls seen in office practice: a study from the Pediatric Research in Office Settings network. *Pediatrics* 1997;99(4):505-12.
46. Hill DD, Cauley JA, Sheu Y, Bunker CH, Patrick AL, Baker CE, et al. Correlates of bone mineral density in men of African ancestry: The Tobago Bone Health Study. *Osteoporos Int* 2008;19(2):227-34.
47. Horlick M, Wang J, Pierson RN Jr, Thornton JC. Prediction models for evaluation of total-body bone mass with dual-energy X-ray absorptiometry among children and adolescents. *Pediatrics*, Evanston 2004;114(3)e337-5.

48. Hou YL, Wu XP, Luo XH, Zhang H, Cao XZ, Jiang YB, et al. Differences in age-related bone mass of proximal femur between Chinese women and different ethnic women in the United States. *J Bone Miner Metab* 2007;25(4):243-52.
49. Hui SL, DiMeglio LA, Longcope C, Peacock M, McClintock R, Perkins AJ, et al. Difference in Bone Mass between Black and White American Children: Attributable to Body Build, Sex Hormone Levels, or Bone Turnover? *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003;88(2):642-649.
50. Iannetta O. Osteoporose: uma ex-enfermidade silenciosa. São Paulo: Tecmed; 2006. p.19-373.
51. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2000 Brasil: 500 anos de povoamento - IBGE. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/brasil500>. Acesso em 05 de março de 2008.
52. Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira - INEP. Mostre sua raça, declare sua cor. Disponível em: http://inep.gov.br/imprensa/noticias/censo/escolar/news05_05.htm. Acesso em 05 de março de 2008.
53. Jaime PC, Latorre MRDO, Florindo AA, Tanaka T, Zerbini CAF. Dietary intake of Brazilian black and white men and its relationship to the bone mineral density of the femoral neck. *São Paulo Med J* 2006;124(5):267-70.
54. Kaplan JB, Bennett T. Use of race and ethnicity in biomedical publication. *JAMA* 2003;289(20):2709-16.
55. Kaufman JS. How inconsistencies in racial classification demystify the race construct in public health statistics. *Epidemiology* 1999;10(2):101-13.
56. Kimm SY, Barton BA, Obarzanek E, McMahon RP, Kronsberg SS, Wacławski MA. Obesity development during adolescence in a biracial cohort: the NHLBI growth and health study. *Pediatrics* 2002;110(5):e54.
57. Kreipe RE. Bones of today, bones of tomorrow. *Am J Dis Child* 1992;146(1):22-5.

58. Kröger HPJ. Measurement of bone mass and density in children. In: Schönau E. Paediatric Osteology. Amsterdam: Elsevier; 1996. p.103-8.
59. Lage AZ, Brandão CA, Mendes JR, Huayllas MK, Liberman B, Mendonça BB, Costa EM, Verreschi IT, Lazaretti-Castro M. High degree of discordance between three-dimensional and two-dimensional lumbar spine bone mineral density in Turner's syndrome. *J Clin Densitom* 2005;8(4):461-6.
60. Lazcano-Ponce E, Tamayo J, Cruz-Valdez A, Diaz R, Hernandez B, Del Cueto R, et al. Peak bone mineral area density and determinants among females aged 9 to 24 years in Mexico. *Osteoporos Int* 2003;14(7):539-547.
61. Lazaretti-Castro M. Por que medir densidade mineral óssea em crianças e adolescentes? *J Pediatr* 2004;80(6):339-340.
62. Leder BZ, Araujo AB, Travison TG, McKinlay JB. Racial and ethnic differences in bone turnover markers in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(9):3453-7.
63. Leonard MB, Shults J, Zemel BS. DXA estimates of vertebral volumetric bone mineral density in children: potential advantages of paired posteroanterior and lateral scans. *J Clin Densitom* 2006;9(3):265-73.
64. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Champaign, IL: Human Kinetics Books;1991. p.90
65. Lu PW, Cowell CT, Lloyd-Jones SA, Briody JN, Howman-Giles R. Volumetric bone mineral density in normal subjects, aged 5-27 Years. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(4):1586-90.
66. Maalouf G, Wehbe J, Farah G, Sawan D, Tannous Z, Nehme A, et al. Phalangeal osteosonogrammetry age-related changes and assessment of a Lebanese reference population. *Bone* 2007;40(6):1650-4.
67. Marshall WA, Tanner SM. Variations in the pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969;44(235):291-303.

68. Marshall WA, Tanner SM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1970;45(239):13-23.
69. Melton LJ III. Who has osteoporosis? A conflict between clinical and public health perspectives. *J Bone Miner Res* 2000;15(12):2309-14.
70. McVeigh JA, Norris SA, Pettifor JM. Bone mass accretion rates in pre- and early-pubertal South African black and white children in relation to habitual physical activity and dietary calcium intakes. *Acta Paediatr* 2007;96(6):874-80.
71. Miljkovic-Gacic I, Ferrell RE, Patrick AL, Kammerer CM, Bunker CH 2005. Estimates of African, European and Native American ancestry in Afro-Caribbean men on the island of Tobago. *Hum Hered* 2005;60(3):129-33.
72. Mora S, Gilsanz V. Establishment of peak bone mass. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003;32(1):39-63.
73. National Center for Health Statistics – NCHS, 2000. Disponível em: <http://www.cdc.gov/growthcharts> . Acesso em 05 de março de 2008
74. Nelson DA, Simpson PM, Johnson CC, Barondess DA, Kleerekoper M. The accumulation of whole body skeletal mass in third- and fourth-grade children: effects of age, gender, ethnicity, and body composition. *Bone* 1997;20(1):73-8.
75. Neto-Pinto AM, Soares A, Urbanetz AA, Souza ACA, Ferrari AEM, Amaral B et al. Consenso Brasileiro de Osteoporose - 2002. *Rev Bras Reumatol* 2002;42(6): 343-54.
76. Neuner JM, Zhang X, Sparapani R, Laud PW, Nattinger AB. Racial and socioeconomic disparities in bone density testing before and after hip fracture. *J Gen Intern Med* 2007;22(9):1239-45.
77. Nordström PK, Thorsen K, Nodström G, Bergström E, Lorentzon R. Bone mass, muscle strength, and different body constitutional parameters in adolescent boys with a low or moderate exercise level. *Bone* 1995;17(4):351-6.

78. Oliveira F. Ser negro no Brasil: alcances e limites. *Estud Av* 2004;18(50):57-60.
79. Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SDJ. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:177-82.
80. Pena SDJ, Bortolini MC. Pode a genética definir quem deve se beneficiar das cotas universitárias e demais ações afirmativas? *Estud Av* 2004;18(50):31-50.
81. Pena SDJ. Razões para banir o conceito de raça da medicina brasileira. *História, Ciências, Saúde, Manguinhos*. 2005;12(1):321-46.
82. Rupich RC, Specker BL, Lieu AF, HoM. Gender and skin color differences in bone mass during infancy. *Calcif Tissue Int* 1996;58:395-7.
83. Santos KD, Ribeiro RR, Petroski EL. Avaliação da quantidade e qualidade óssea de crianças por meio de ultra-som quantitativo um estudo piloto [errata publicada em *Rev Bras Med* 2008;65(5):138]. *Rev Bras Med* 2008;65(4):96-9.
84. Shaffer JR, Kammerer CM, Reich D, McDonald G, Patterson N, Goodpaster B, Bauer DC, Li J, Newman AB, Cauley JA, Harris TB, Tylavsky F, Ferrell RE, Zmuda JM. Genetic markers for ancestry are correlated with body composition traits in older African Americans. *Osteoporos Int* 2007;18(6):733-41.
85. Silva CC, Goldberg TBL, Teixeira AS, Dalmas JC. Bone mineralization among male adolescents: critical years for bone mass gain. *J Pediatr* 2004;80(6):461-7.
86. Silva CC, Goldberg TBL, Teixeira AS, Dalmas JC. Bone mineralization in Brazilian adolescents: the years of maximum bone mass incorporation. *ALAN*;2007;57(2):118-24.
87. Silva NV. Cor e processo de realização socioeconômica. In: Hasenbalg CA, Silva NV. *Estrutura social, mobilidade e raça*. São Paulo: Vértice; 1988. p.144-63.
88. Silva NV. Uma nota sobre “raça social” no Brasil. In: Hasenbalg CA, Silva NV, Lima M. *Cor e estratificação social*. Rio de Janeiro: Contracapa; 1999. p.107-25.

89. Slosman DO, Rizzoli R, Bonjour JP. Bone absorptiometry: a critical appraisal of various methods. *Acta Paediatr* 1995;Suppl(411):9-11.
90. Tan LJ, Lei SF, Chen XD, Liu MY, Guo YF, Hong X, et al. Establishment of peak bone mineral density in Southern Chinese males and its comparisons with other males from different regions of China. *J Bone Miner Metabol* 2007;25(2):114-21.
91. Telles E. *Racismo à brasileira: uma nova perspectiva sociológica*. Rio de Janeiro: Relume Dumará; 2003. p.347.
92. Travassos C, Viacava F, Pinheiro R, Brito A. Utilização dos serviços de saúde no Brasil: gênero, características familiares e condição social. *Rev Panam Salud Publica* 2002;11(5-6):365-73.
93. Travison TG, Araujo AB, Esche GR, McKinlay JB. The relationship between body composition and bone mineral content: threshold effects in a racially and ethnically diverse group of men. *Osteoporos Int* 2008;19(1):29-38.
94. Travison TG, Beck TJ, Esche GR, Araujo AB, McKinlay JB. Age trends in proximal femur geometry in men: variation by skin color and ethnicity. *Osteoporos Int* 2008;19:277-87.
95. Turner CH, Peacock M, Timmerman L, Neal JM, Johnston-Jr CC. Calcaneal Ultrasonic Measurements Discriminate Hip Fracture Independently of Bone Mass. *Osteoporos Int* 1995;5(2):130-5.
96. Van der Sluis IM, Muinck Keizer-Schrama SMPF. Osteoporosis in childhood: bone density in children in health and disease. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2001;14(7):817-32.
97. Vellas B, Gillette-Guyonnet S, Nourhashémi F, Rolland Y, Lauque S, Ousset PJ, et al. Chutes, fragilité et ostéoporose chez la personne âgée: un problème de santé publique. *Rev Med Interne* 2000;21(7):608-13.
98. Vidulich L, Norris SA, Cameron N, Pettifor JM. Infant programming of bone size and bone mass in 10-year-old black and white South African children. *Paediatr Perinatol Epidemiol* 2007;21(4):354-62.

99. Vignolo M, Parodi A, Mascagni A, Torrisi C, Terlizzi F de, Aicardi G. Longitudinal assessment of bone quality by quantitative ultrasonography in children and adolescents. *Ultrasound in Med Biol* 2006;32(7):1003-10.
100. Vignolo M, Brignone A, Mascagni A, Ravera G, Biasotti B, Aicardi G. Influence of Age, Sex, and Growth Variables on Phalangeal Quantitative Ultrasound Measures: A Study in Healthy Children and Adolescents. *Calcif Tissue Int* 2003;72(6):681-8.
101. Williams DR. Racial/ethnic variations in women's health: the social embeddedness of health. *Am J Public Health* 2002;92(4):588-97.
102. World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Geneva: WHO; 1994;843(3)1-129.
103. World Health Organization. Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. Geneva: WHO; 1986;64:929-41.
104. Wren TAL, Liu X, Pitukcheewanont P, Gilsanz V. Bone acquisition in health children and adolescents: comparisons of dual-energy x-ray absorptiometry and computed tomography measures. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(4):1925-8.
105. Wu X, Hou YL, Zhang H, Shan PF, Zhao Q, Cao XZ, et al. Establishment of BMD reference databases for the diagnosis and evaluation of osteoporosis in central southern Chinese men. *J Bone Mineral Metab* 2008;26(6):586-94.
106. Wüster C, Hadji P. Use of quantitative ultrasound densitometry (QUS) in male osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 2001;69(4):225-8.
107. Wüster C, Albanese C, de Aloysio D, Duboeuf F, Gambacciani S, Gonelli S, Glüer CC, Hans D, Joly J, Reginster JY, De Terlizzi F, Cadossi R. Phalangeal osteosonogrammetry study: age-related changes, diagnostic sensitivity, and discrimination power. *J Bone Miner Res* 2000;15(8):1603-14.
108. Youfa W. Is obesity associated with early sexual maturation? A comparison of the association in american boys versus girls. *Pediatrics* 2002;110(5):903-10.

ANEXOS



ANEXO 1

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA PARA PESQUISA COM SERES HUMANOS



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas, SP

☎ (0_19) 3788-8936

FAX (0_19) 3788-8925

🌐 www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

✉ cep@fcm.unicamp.br

CEP, 20/01/04.
(Grupo III)

PARECER PROJETO: Nº 557/2003

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL E PERFIL SÓCIO-ECONÔMICO EM CRIANÇAS DE CINCO A DEZ ANOS DE IDADE DE DIFERENTES ETNIAS”

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Roberto Regis Ribeiro

INSTITUIÇÃO: Municípios de Vera Cruz do Oeste e Céu Azul, PR.

APRESENTAÇÃO AO CEP: 18/11/2003

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 20/01/05

II - OBJETIVOS

Estudar crescimento, composição corporal e classificação sócio-econômica de uma população de crianças de 5 a 10 anos de idade, de diferentes etnias e de ambos os sexos, nas escolas públicas nos municípios de Céu Azul e Vera Cruz do Oeste, PR. Correlacionar as variáveis de crescimento, composição corporal com nível sócio-econômico e com outros estudos.

III – SUMÁRIO

Trata-se de um estudo analítico transversal realizado nas escolas públicas das cidades de Céu Azul e Vera Cruz do Oeste que autorizarem a sua realização. Estima-se que 2.366 crianças deverão estar matriculadas nestas escolas no ano 2004. A coleta de dados (peso, estatura, circunferência braquial, pregas cutâneas e densidade mineral óssea) será feita nas escolas, em uma única vez e em horário por elas determinado, por 8 estudantes de educação física da Faculdade Assis Gurgacz (Cascavel, PR) e treinados pelo pesquisador. O nível sócio-econômico será estimado a partir de questionário específico entregue pelas crianças aos pais e recolhido na escola. Há um cronograma das etapas do trabalho indicando a duração do estudo em 3 anos. Há um orçamento dos gastos previstos, com comentários sobre a(s) fonte(s) e o empréstimo de materiais usados no estudo.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Nesta segunda versão, o projeto apresenta a definição do problema, justificativa, hipóteses, objetivos, referências na literatura e discussão de aspectos éticos adequados. Os critérios de inclusão, exclusão, as formas de recrutamento e demais aspectos metodológicos estão adequados, caracterizando um protocolo de pesquisa de acordo com as exigências da Resolução CNS 196/96.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na I Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 20 de janeiro de 2004.


Prof. Dra. Carmen Sílvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

ANEXO 2

CARTA DE ACEITE DO ARTIGO "BONE QUANTITY AND QUALITY IN BRAZILIAN FEMALE SCHOOL CHILDREN AND ADOLESCENTS" ENVIADO AO JOURNAL OF BONE MINERAL METABOLISM

----- Original Message -----

From: <gilguer@fcm.unicamp.br>

To: <gileandrea@uol.com.br>

Sent: Wednesday, November 26, 2008 6:36 AM

Subject: [Fwd: JBMM: Your manuscript entitled Bone quantity and quality in Brazilian female school children and adolescents.]

----- Mensagem Original-----

Assunto: JBMM: Your manuscript entitled Bone quantity and quality in Brazilian female school children and adolescents.

De: "Editorial Office JBMM" <jbmm@apoplus.co.jp>

Data: Qua, Novembro 26, 2008 4:53 am

Para: gilguer@fcm.unicamp.br

-

Ref.: Ms. No. JBMM-D-08-00091R2

Bone quantity and quality in Brazilian female school children and adolescents.

Journal of Bone and Mineral Metabolism

Dear Professor Guerra-Junior,

It is a pleasure to inform you that your work has now been accepted for publication in Journal of Bone and Mineral Metabolism.

It was accepted on 24-11-2008.

Thank you for submitting your work to this journal.

With kind regards

Yoshiki Seino

Editor-in-Chief

Journal of Bone and Mineral Metabolism

P.S.: Please cite this paper when you submit your next paper to JBMM or any other journal.

APÊNDICES



APÊNDICE 1

CARTA ENVIADA AOS DIRETORES DAS ESCOLAS

Carta de Comunicação

Prezado (a) Senhor (a)

Estaremos realizando no decorrer deste 1º semestre de 2004, um projeto de pesquisa sobre **“Avaliação do crescimento e composição corporal em crianças de cinco a dez anos de idade de diferentes etnias”**, o qual tem por finalidade avaliar o crescimento e a composição corporal das crianças através de medidas de peso, altura, dobras cutâneas (% de gordura) e características étnicas.

Este estudo faz parte de um projeto da tese de mestrado do aluno Roberto Regis Ribeiro, através da Faculdade de Ciências Médicas – FCM – da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP – São Paulo.

Para garantir a confiabilidade de nosso trabalho, os procedimentos utilizados estarão de acordo com os parâmetros aceitos internacionalmente, os quais serão realizados por pessoas orientadas e amplamente capacitadas.

A avaliação da criança somente será feita com prévia autorização do responsável, **mediante apresentação do termo de consentimento livre e esclarecido, devidamente preenchido e assinado .**

Maiores Esclarecimentos:

- ✓ A criança poderá desistir do estudo a qualquer momento;
- ✓ O professor responsável pelas crianças estará presente durante a avaliação;
- ✓ Os dados serão coletados na própria escola, em horário de aula;
- ✓ A avaliação não oferecerá em hipótese alguma nenhum risco à criança.

Qualquer dúvida para questões de esclarecimento estarei a sua inteira disposição pelos telefones (45) 223-7495 e (45) 9107-7495.

APÊNDICE 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____ declaro por livre e espontânea vontade permiti a participação de _____ (nome da criança), com idade de ____ anos data de nascimento (____/____/19__) encontrando-se sobre a responsabilidade de _____ (pai ou responsável), com ____ anos, cujo grau de parentesco é _____, na pesquisa intitulada **“Avaliação do crescimento e composição corporal em crianças de cinco a dez anos de idade de diferentes etnias”**, sendo este, um projeto de Tese de Mestrado do aluno Roberto Regis Ribeiro, através Faculdade de Ciências Médicas – FCM – da Universidade Estadual de Campinas UNICAMP – São Paulo.

Gostaria de salientar que serão realizadas simples avaliações como por exemplo de peso e altura, aplicação de um questionário para avaliar o nível sócio-econômico em que vive a criança. O questionário deverá ser respondido pelos pais ou responsáveis pela mesma. Ressalto ainda que esta pesquisa não oferece nenhum risco físico ou moral as crianças e os demais envolvidos.

Estou ciente que não receberei remuneração em troca da participação da criança no projeto, as medidas serão realizadas na própria escola, em horário de aula em uma sala contando com presença do professor responsável pela turma. Cada criança será avaliada no máximo em 15 minutos. Os dados serão coletados por acadêmicas do Curso de Educação Física da Faculdade Assis Gurgacz (FAG), buscando não oferecer nenhum constrangimento para as crianças.

Vale ressaltar que a criança poderá abandonar a pesquisa a qualquer momento, sem sofrer qualquer penalidade ou prejuízo, e ainda, o nome da criança e os seus dados serão somente utilizados para os fins do conhecimento científico, mantendo-os no mais absoluto sigilo. Para qualquer dúvida ou esclarecimento sobre os procedimentos da pesquisa podem ser obtidas com o pesquisador pelos telefones (45__) 223-7495 e (45__) 9107-7495, denúncias ou queixas podem ser feitas a qualquer tempo pelo telefone do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) (0__19) 3788-8936 ou pelo e-mail: cep@fcm.unicamp.br.

De acordo, responsável pela criança: _____
Cascavel, _____ de _____ de 2004.

APÊNDICE 3

Questionário para Classificação Sócio-Econômica e Caracterização Étnica do Escolar

- 1 Nome da criança: _____ Data de nascimento: __/__/__.

- 2 Colocar o grau de instrução do pai da criança que foi avaliada:
☐ analfabeto/primário incompleto
☐ primário completo/ginásio incompleto
☐ ginásio completo/superior completo
☐ 2 grau completo/superior incompleto
☐ superior completo

- 3 Colocar o grau de instrução da mãe da criança que foi avaliada:
☐ analfabeto/primário incompleto
☐ primário completo/ginásio incompleto
☐ ginásio completo/superior completo
☐ 2 grau completo/superior incompleto
☐ superior completo

- 4 Senhores pais, por favor, marquem com um X a quantidade dos itens abaixo que existem na sua casa:
Aparelho de Videocassete ()0 ()1 ()2 ()3 ()4 ()5 ()6 ou mais
Máquina de Lavar Roupa ()0 ()1 ()2 ()3 ()4 ()5 ()6 ou mais
Geladeira..... ()0 ()1 ()2 ()3 ()4 ()5 ()6 ou mais
Aspirador de pó ()0 ()1 ()2 ()3 ()4 ()5 ()6 ou mais
Carro ()0 ()1 ()2 ()3 ()4 ()5 ()6 ou mais
TV em cores ()0 ()1 ()2 ()3 ()4 ()5 ()6 ou mais
Banheiro ()0 ()1 ()2 ()3 ()4 ()5 ()6 ou mais
Empregada Mensalista..... ()0 ()1 ()2 ()3 ()4 ()5 ()6 ou mais
Rádio (s) ()0 ()1 ()2 ()3 ()4 ()5 ()6 ou mais

Dados dos Pais e Avós da Criança

Nome Pai: _____

Local de Nascimento: _____

Descendente de:

Portugueses ()

Alemães ()

Italianos ()

Africanos ()

Não sabe ()

Outros () Qual? _____

Nome Mãe: _____

Local de Nascimento: _____

Descendente de:

Portugueses ()

Alemães ()

Italianos ()

Africanos ()

Não sabe ()

Outros () Qual? _____

Avô paterno (pai do pai)

Descendente de:

Portugueses ()

Alemães ()

Italianos ()

Africanos ()

Não sabe ()

Outros () Qual? _____

Avó paterna (mãe do pai)

Descendente de:

Portugueses ()

Alemães ()

Italianos ()

Africanos ()

Não sabe ()

Outros () Qual? _____

Avô materno (pai da mãe)

Descendente de:

Portugueses ()

Alemães ()

Italianos ()

Africanos ()

Não sabe ()

Outros () Qual? _____

Avó materna (mãe da mãe)

Descendente de:

Portugueses ()

Alemães ()

Italianos ()

Africanos ()

Não sabe ()

Outros () Qual? _____

APÊNDICE 4
FICHA DE AVALIAÇÃO

DADOS DA ESCOLA			
			Data da avaliação: ____/____/____
Nome: _____			
Telefone: _____		Bairro: _____	
Cidade: () Céu Azul () Vera Cruz do Oeste Zona: () Urbana () Rural			
DADOS DA CRIANÇA			
Nome: _____			Série: _____
Local de Nasc.: _____		Data de Nascimento: ____/____/____	
Idade em anos: _____		Sexo: () Feminino () Masculino	
Cor: () Branco () Preto () Pardo/Mulato () Amarelo () Indígena			
MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS			
Peso (Kg): _____		Massa Magra (Kg): _____	Massa Gorda (Kg): _____
(%) de Gordura: _____		Total de Água Corporal (L): _____	IMC: _____
Altura Tronco-Cefálica (cm): _____		Altura (cm): _____	
DOBRAS			
Tríceps: _____		Subescapular: _____	Abdom. Vertical: _____
Pant. Medial: _____			
PERÍMETROS			
Braço: _____		Cintura: _____	Quadril: _____
DIÂMETRO ÓSSEO			
Biestilóide: _____		Biepicondiliano do Fêmur: _____	Biepicondiliano do Úmero: _____
DENSIDADE ÓSSEA			
1º Dedo Indicador _____		2º Dedo Médio _____	3º Dedo Anular _____
4º Dedo Mínimo _____			
AUTO- AVALIAÇÃO DA MATURAÇÃO SEXUAL			
Meninas: M: _____		Meninos: G: _____ P: _____	
OBS: (HISTÓRICO MÉDICO)			

APÊNDICE 5
AUTORIZAÇÃO DAS ESCOLAS PARA REALIZAÇÃO DO ESTUDO

Declaração das Escolas Municipais de Céu Azul

Data: 10/11/2003

Eu diretor (a), declaro para os devidos fins que, Roberto Regis Ribeiro, solicitou perante esta escola autorização para realizar a coleta de dados de sua tese de mestrado intitulada "AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL E PERFIL SÓCIO-ECONÔMICO EM CRIANÇAS DE CINCO A DEZ ANOS DE IDADE DE DIFERENTES ETNIAS". Visto que este declara conhecer e cumprir os requisitos da Resolução CNS 196/96 e suas complementares. Comprometendo-se a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceitando as responsabilidades pela condução científica do projeto.

Sendo assim, autorizo sua execução.

Escola Rural Municipal José Bonifácio	Cargo <u>Coordenadora</u>
Nome <u>Berenice Conterme</u>	Assinatura <u>Berenice Conterme</u>
Escola Municipal Olavo Bilac	Cargo <u>Diretora</u>
Nome <u>Selma Sgobi</u>	Assinatura <u>Selma Sgobi</u> Diretora Resol Nº09/2002
Escola Municipal Tancredo Neves	Cargo _____
Nome <u>Rosane Zampieri Pedrosa</u>	Assinatura <u>[Assinatura]</u>
Escola Municipal São Cristóvão	Cargo <u>DIRETORA</u>
Nome <u>Marlene A. Bortoluzzi</u> Diretora Resolução 10/2003	Assinatura <u>[Assinatura]</u>
Escola Municipal Leôncio Correia	Cargo <u>DIRETORA</u>
Nome <u>Vilma R. De Moraes</u> Diretora Resolução 12/2003	Assinatura <u>[Assinatura]</u>
CEMEI São Francisco de Assis	Cargo <u>DIRETORA</u>
Nome <u>SAIONARA D. RIEGER</u> DIRETORA RESOLUÇÃO Nº 13/2001	Assinatura <u>[Assinatura]</u>

Declaração das Escolas Municipais de Vera Cruz do Oeste

Data: 10/11/2003

Eu diretor (a), declaro para os devidos fins que, Roberto Regis Ribeiro, solicitou perante esta escola autorização para realizar a coleta de dados de sua tese de mestrado intitulada "AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL E PERFIL SÓCIO-ECONÔMICO EM CRIANÇAS DE CINCO A DEZ ANOS DE IDADE DE DIFERENTES ETNIAS". Visto que este declara conhecer e cumprir os requisitos da Resolução CNS 196/96 e suas complementares. Comprometendo-se a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceitando as responsabilidades pela condução científica do projeto.

Sendo assim, autorizo sua execução.

Escola Rural Municipal Menino Jesus	Cargo <u>Responsável</u>
Nome <u>Sebastião Verdiano Fredoni</u>	Assinatura <u>[Assinatura]</u>
Escola Rural Municipal Castelo Branco	Cargo <u>Diretor</u>
Nome <u>Arlando de Souza</u>	Assinatura <u>[Assinatura]</u>
Escola Municipal Jardim América	Cargo <u>Diretora</u>
Nome <u>Maria do Carmo Cabreira</u>	Assinatura <u>[Assinatura]</u>
Escola Municipal Gerado B. Chaves	Cargo <u>[Assinatura]</u>
Nome <u>Henio Luis Meneghetti</u>	Assinatura <u>[Assinatura]</u>
Escola Municipal Atilio Carnelosse	Cargo <u>Diretora Auxi</u>
Nome <u>Regina N. N. Luiz Trombetta</u>	Assinatura <u>[Assinatura]</u>
Centro de Educação Infantil Pequeno Príncipe	Cargo <u>[Assinatura]</u>
Nome <u>Adriana de Miguel Ribeiro</u>	Assinatura <u>[Assinatura]</u>