

LUIZ FRANCISCO CINTRA BACCARO

**FATORES ASSOCIADOS À DENSIDADE
MINERAL ÓSSEA DE MULHERES SUBMETIDAS
A TRANSPLANTE DE FÍGADO**

Dissertação de Mestrado

**ORIENTADOR: Prof. Dr. AARÃO MENDES PINTO NETO
CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. ILKA DE FÁTIMA SANTANA FERREIRA BOIN**

**Unicamp
2010**

LUIZ FRANCISCO CINTRA BACCARO

**FATORES ASSOCIADOS À DENSIDADE
MINERAL ÓSSEA DE MULHERES SUBMETIDAS
A TRANSPLANTE DE FÍGADO**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de
Mestre em Tocoginecologia, pelo
Programa de Pós-Graduação em
Tocoginecologia, Área de Concentração
Tocoginecologia

ORIENTADOR: Prof. Dr. AARÃO MENDES PINTO NETO
CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. ILKA DE FÁTIMA SANTANA FERREIRA BOIN

**Unicamp
2010**

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

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

B12f

Baccaro, Luiz Francisco Cintra
Fatores associados à densidade mineral óssea de
mulheres submetidas a transplante de fígado / Luiz
Francisco Cintra Baccaro. Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientadores: Aarão Mendes Pinto Neto; Ilka de
Fátima Santana Ferreira Boin
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Osteoporose. 2. Insuficiência hepática. 3. Menopausa.
I. Pinto Neto, Aarão Mendes. II. Boin, Ilka de Fátima
Santana Ferreira. III. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Título em inglês: Factors associated with bone mineral density of women submitted to liver
transplantation

Keywords:

- Osteoporosis
- Liver failure
- Menopause

Titulação: Mestre em Tocoginecologia

Área de concentração: Tocoginecologia

Banca examinadora:

Prof. Dr. Aarão Mendes Pinto Neto
Profª. Drª. Maria Salete Costa Gurgel
Prof. Dr. Rogério Bonassi Machado

Data da defesa: 18-08-2010

Diagramação e arte final: Assessoria Técnica do CAISM (ASTEC)

C
R.13

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: LUIZ FRANCISCO CINTRA BACCARO

Orientador: Prof. Dr. AARÃO MENDES PINTO NETO

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. ILKA DE FÁTIMA SANTANA FERREIRA BOIN

Membros:

1.

2.

3.

Luiz Baccaro
Aarão Mendes Pinto Neto
Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin

**Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade
de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas**

Data: 18/08/2010

201023396

Dedico este trabalho...

*À minha amada esposa Fernanda e minha filha Clara,
você são a razão de tudo isso.*

*Aos meus pais Luiz Henrique e Regina,
muito obrigado pelo apoio e incentivo.
Sem eles nada disso seria possível.*

*Às mulheres transplantadas hepáticas.
Que de alguma forma este trabalho possa contribuir
para o aperfeiçoamento do seu acompanhamento.*

Agradecimentos

Ao Professor Aarão por ter me orientado durante este trabalho. Antes de tudo um amigo. Orientador brilhante nos momentos necessários.

À Professora Ilka, pela oportunidade oferecida no acompanhamento das pacientes transplantadas hepáticas.

À Professora Adriana Orcesi Pedro. Sua contribuição foi inestimável para que eu conseguisse concluir este trabalho. Mais uma vez, muito obrigado!

À Professora Lúcia Costa Paiva pelas sugestões sempre bem-vindas durante o desenvolvimento do projeto. Meu sincero agradecimento.

À Doutora Aline Leal, pela ajuda na realização das densitometrias ósseas.

À Sirlei Siani Moraes, pela realização da análise estatística do estudo.

Aos funcionários do ambulatório de menopausa, em especial á Edinalda, pela ajuda na orientação às pacientes.

Ao pessoal da ASTEC, Maria do Rosário Zullo, William Alexandre, Cylene e Néder, pela disponibilidade e paciência que sempre tiveram comigo.

À Bete e a Fátima do ambulatório de transplante hepático, sempre disponíveis para me ajudar com as pacientes transplantadas.

À minha grande amiga Maria Laura Costa do Nascimento, muito obrigado pelo incentivo para começar o mestrado e sugestão de acompanhar as transplantadas hepáticas. Muito obrigado!

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas.....	vii
Resumo	viii
Summary	x
1. Introdução.....	12
2. Objetivos.....	19
3. Sujeitos e Método	20
3.1. Desenho.....	20
3.2. Tamanho amostral.....	20
3.3. Variáveis	20
3.3.1. Variáveis independentes.....	20
3.3.2. Variáveis dependentes.....	24
3.3.3. Variáveis descritivas	24
3.4. Técnicas, testes e exames.....	25
3.5. Seleção dos sujeitos	26
3.5.1. Critérios de inclusão	27
3.5.2. Critérios de exclusão	27
3.6. Coleta de dados	27
3.7. Controle de qualidade.....	28
3.8. Processamento e análise dos dados.....	28
3.9. Considerações éticas.....	29
4. Publicação	30
5. Conclusões	56
6. Referências Bibliográficas	57
7. Anexos.....	63
7.1. Anexo 1 – Ficha de coleta de dados	63
7.2. Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	66
7.3. Anexo 3 – Carta de Aprovação do CEP	68

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

CAISM – Hospital da Mulher Professor Doutor José Aristodemo
Pinotti - Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher

DP – Desvio-padrão

FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

Gama-GT – Gama glutamilttransferase

HC – Hospital de Clínicas

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC – Intervalo de confiança

IL-2 – Interleucina 2

IMC – Índice de Massa Corpórea

OR – Odds Ratio

SHBG – Globulina carreadora de hormônios sexuais

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

Resumo

Objetivos: avaliar a massa óssea e os fatores associados em mulheres submetidas a transplante de fígado em acompanhamento no Ambulatório da Unidade de Transplante Hepático do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas **Sujeitos e Métodos:** estudo de corte-transversal com mulheres transplantadas hepáticas em acompanhamento no Ambulatório da Unidade de Transplante Hepático do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas. Foram incluídas todas as mulheres que realizaram transplante hepático há pelo menos um ano e com idade igual ou superior a 35 anos. Foram identificadas 33 mulheres que preenchiam os critérios de inclusão. Dessas, 6 não responderam ao contato telefônico e 4 não quiseram participar, sendo o número final de mulheres participantes igual a 23. Foi realizada entrevista, sempre pelo mesmo pesquisador, onde foram obtidos dados clínicos, sócio-demográficos e realizados exame físico geral e ginecológico. Após a avaliação clínica as mulheres foram encaminhadas para realização de exames laboratoriais (aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, gama glutamiltransferase, bilirrubina total e frações) e densitometria óssea de coluna lombar e fêmur. A análise estatística

foi realizada através do teste exato de Fisher, OR simples e coeficiente de correlação de Spearman. Todas assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido previamente à entrevista, e o estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP. **Resultados:** A média de idade das mulheres foi de $52,5 \pm 10,9$ anos e a média de tempo pós transplante foi de $5,8 \pm 3,1$ anos. Do total de 23 mulheres incluídas no estudo, 56,5% apresentaram massa óssea alterada. Estar na pós menopausa foi fator de risco para diminuição da massa óssea: OR 69,0 (95% IC 2,89-1647,18; $p < 0,0001$). Ter idade superior a 44 anos na realização do procedimento aumentou o risco para diminuição da massa óssea: OR 49,50 (95% IC 3,84-638,43; $p < 0,0001$). Ter idade superior a 49 anos aumentou o risco para diminuição na massa óssea: OR 13,33 (95% IC 1,78-100,15; $p = 0,0123$). Apresentar um período de tempo maior que 5,8 anos da realização do transplante foi fator protetor para diminuição na massa óssea: OR 0,11 (95% IC 0,02-0,78; $p = 0,0361$). **Conclusão:** mais da metade das mulheres transplantadas hepáticas apresentaram diminuição da massa óssea. O estado menopausal, a idade, a idade ao transplante e o tempo pós transplante foram os fatores associados à alteração da massa óssea em mulheres transplantadas hepáticas.

Palavras-chave: osteoporose; insuficiência hepática; menopausa.

Summary

Objectives: to evaluate bone mass and risk factors associated with bone mass alterations in women undergoing liver transplantation followed at the Liver Transplant Outpatient Unit in the Clinics Hospital of the Campinas State University Medical School. **Subjects and Methods:** a cross-sectional study of women undergoing liver transplantation and followed at the Liver Transplant Outpatient Unit in the Clinics Hospital of the Campinas State University Medical School was carried out. All women aged 35 years or older who had received a liver transplant at least one year before enrollment were included in the study. Thirty-three women satisfied the criteria for study inclusion. Of the total, 6 did not respond to telephone contact and 4 declined to participate. As a result, the final number of women participating in the study was 23. An interview was conducted always by the same investigator for collection of clinical and sociodemographic data, as well as the performance of a general physical and gynecological examination. After clinical evaluation, the women underwent laboratory tests (aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, gamma glutamyltransferase, total and fractionated bilirubin) and bone mineral density measurement of the lumbar spine and femur. Statistical analysis was performed by Fisher's exact

test, simple OR and Spearman's rank correlation coefficient. All women signed a written informed consent term prior to the interview. The study was approved by the Research Ethics Committee of UNICAMP. **Results:** The mean age of the women was 52.5 ± 10.9 years and mean time since transplantation was 5.8 ± 3.1 years. Of the total number (23) of women included in the study, 56.5% had alteration in bone mass. Being postmenopausal was a risk factor for decreased bone mass: OR 69.0 (95% CI 2.89-1647.18; $p < 0.0001$). Being over 44 years of age at the time of the surgical procedure increased the risk for decreased bone mass: OR 49.50 (95% CI 3.84-638.43; $p < 0.0001$). Being over 49 years of age increased the risk for decreased bone mass: OR 13.33 (95% CI 1.78-100.15; $p = 0.0123$). A period of time longer than 5.8 years since transplantation was a protective factor for decreased bone mass: OR 0.11 (95% CI 0.02-0.78; $p = 0.0361$). **Conclusion:** more than 50% of the women undergoing liver transplantation had decreased bone mass. Menopausal status, current age, age at the time of transplantation and time since transplantation were factors associated with bone mass alterations in women receiving a liver transplant.

Keywords: osteoporosis; liver failure; menopause.

1. Introdução

Nas últimas décadas o transplante hepático concretizou-se como uma forma de terapia amplamente aceita em todo o mundo. Os grandes progressos na transplantologia clínica têm levado a bons resultados em longo prazo, o que se traduz em aumento significativo na sobrevida dos pacientes portadores de doenças hepáticas graves (1). A taxa de sobrevida em 8 anos da população geral no estado de São Paulo no período de 1997 a 2010 foi de 62,2% e a taxa de sobrevida em 8 anos no mesmo período considerando-se apenas as mulheres submetidas a transplante de fígado foi de 61% (2).

As principais indicações de transplante hepático são as doenças hepáticas crônicas, porém também é indicado em doenças agudas como a insuficiência hepática fulminante. A cirrose hepática é responsável por 80% das indicações de transplante. Dentre as principais causas de cirrose destacam-se a hepatite C e o alcoolismo. Outras doenças indicadoras de transplante são as desordens colestáticas como a cirrose biliar primária, a colangite esclerosante e a atresia biliar, outras hepatites crônicas como a hepatite B e as hepatites autoimunes,

as doenças metabólicas como a doença de Wilson e a esteatohepatite não alcoólica, além da falência hepática fulminante e o carcinoma hepatocelular não metastático (1).

Apesar do aumento na sobrevida pós-transplante, há um reconhecido aumento na morbidade, que pode levar à diminuição na qualidade de vida dos pacientes transplantados (3). A osteoporose é uma importante complicação após o transplante de fígado, entretanto suas causas ainda não são totalmente esclarecidas, e apesar de sua alta frequência, muitas vezes é ocultada pelas complicações mais urgentes decorrentes da doença hepática crônica e pode não ser diagnosticada corretamente (4). Em estudo prévio, Segal et al observaram prevalência de massa óssea alterada de 65,5% em pacientes transplantados hepáticos (5). Além de alterações na massa óssea, há também aumento na incidência de fraturas, que nos primeiros 6 meses após o transplante pode ficar entre 25-35% (3; 6-14), sendo a maioria delas na coluna vertebral.

Estudos prévios mostraram que a baixa massa óssea decorrente da doença hepática crônica pré-existente associada às altas doses de imunossupressores administrados nos primeiros momentos após o transplante podem levar a um desequilíbrio entre a formação e a reabsorção óssea (3,4,15) causando perda intensa de massa óssea nos primeiros 3-6 meses após o transplante hepático. Estudos com histologia óssea mostram que após 6 meses da realização do procedimento ocorre o nadir da perda óssea, a partir daí há um aumento gradual da massa óssea, que alcança níveis pré-transplante em aproximadamente 2 anos

(3). Em seu estudo, Guichelaar et al (4) identificaram como principais fatores de risco para maior perda de massa óssea nos primeiros 4 meses após o transplante ter menor idade ao procedimento, ter como doença de base a colangite esclerosante primária, possuir maior massa óssea pré-transplante, ter menor tempo de duração da doença, ser tabagista e possuir quadro de colestase nos 4 meses prévios ao transplante. No mesmo estudo, foram identificados como fatores associados a um maior ganho de massa óssea após o procedimento ter menor massa óssea quando da realização do transplante, estar na pré-menopausa, utilizar menor dose de corticóides, não apresentar colestase e ter melhores níveis de vitamina D e função paratiroideana, ou seja, há uma melhor recuperação do osso em pacientes com menor massa óssea que são submetidos com sucesso ao transplante, apresentam função normal do enxerto, boa condição hormonal e nutricional (4).

O efeito adverso do uso crônico de glicocorticóides na massa óssea já está bem estabelecido (16-24). O efeito deletério dos glicocorticóides aparentemente se deve à inibição na diferenciação e atividade dos osteoblastos, além da redução na apoptose dos osteoclastos, levando a menor formação e a maior reabsorção do osso (25). A perda de massa óssea induzida pelo uso de corticóides é mais pronunciada nos primeiros meses após o transplante e afeta tanto o osso de tipo trabecular quanto o cortical (21).

As doenças colestáticas como a cirrose biliar primária e a colangite esclerosante primária também têm sido descritas como fator de risco para

alteração da massa óssea devido a uma possível má absorção de cálcio e vitamina D, além de uma possível interferência da hiperbilirrubinemia na função dos osteoblastos (26). Outros fatores como deficiência de vitamina D, desnutrição e pouca mobilidade, comuns em pacientes com doenças hepáticas terminais, também contribuem para diminuir a densidade mineral óssea (27).

As mulheres representam aproximadamente um terço dos pacientes transplantados hepáticos. Dentre elas as principais causas indicadoras de transplante são a cirrose biliar primária, a cirrose pós-hepatite e a hepatite autoimune (28), e no Brasil, a hepatite por vírus C e o alcoolismo (29).

O fígado é órgão essencial no metabolismo dos hormônios sexuais. Ele conjuga os estrogênios para formar glicuronídeos e sulfatos, sendo cerca de um quinto desses produtos excretados na bile, enquanto a maior parte do remanescente é excretada na urina. Além disso, o fígado converte os potentes estrogênios estradiol e estrona no estrogênio quase totalmente impotente, o estriol (30). Outra importante função desempenhada pelos hepatócitos é a produção da globulina carreadora de hormônios sexuais (SHBG). A maior parte do estrogênio produzido no organismo, cerca de 69%, circula ligado à SHBG, 30% circula ligado à albumina, e a menor parte, 1%, circula livre no plasma. A fração de hormônio livre é a fração ativa. O nível circulante de SHBG é inversamente proporcional à fração livre de hormônio sexual, portanto quanto menor a taxa de SHBG circulante, maior a fração de hormônio sexual ativo (31).

Pacientes portadoras de hepatopatias graves apresentam alterações importantes da função hepática que podem comprometer a metabolização dos hormônios sexuais e SHBG, ocasionando repercussões clínicas. Estudos anteriores determinaram que a principal anormalidade do ciclo menstrual das pacientes com falência hepática é a amenorréia secundária. Parolin et al avaliaram 28 pacientes que já haviam sido submetidas a transplante hepático com uma média etária de 44,2 anos e uma média de sobrevida pós-transplante de 36,5 meses. Cerca de 59% das mulheres relatou amenorréia secundária um ano antes do procedimento. Após o transplante 86,4% das mulheres recobram a função menstrual, em média um mês após o procedimento (32). Outros estudos que também avaliaram a função reprodutiva de mulheres com doença hepática crônica e irregularidade menstrual pré-transplante mostraram que após a realização do transplante hepático, cerca de 80 a 90% recuperaram a função menstrual alguns meses após o procedimento (33-34).

Por outro lado, Jabiry-Zienjewicz et al estudaram 13 pacientes portadoras de doença hepática crônica antes e após o transplante. A média etária das pacientes quando da realização do transplante foi de 50,17 anos (46 a 55 anos). Aproximadamente a metade apresentava amenorréia secundária antes da realização do transplante, além de apresentarem níveis de estradiol significativamente menores do que as mulheres controle. Após a realização do procedimento não foi observado retorno a um padrão de sangramento normal, além de não haver aumento significativo nos níveis de estradiol (28). Tais dados diferem dos obtidos nos estudos previamente descritos. A principal explicação

para tal divergência é de que a média etária das pacientes no estudo de Jabiry-Zienjewicz foi superior a dos demais, sugerindo que tais pacientes já se encontravam no período climatérico.

A relação entre status menopausal e densidade mineral óssea após o transplante hepático não está completamente esclarecida. Existem relativamente poucos estudos relacionados ao hipogonadismo após o transplante, e os que existem se restringem à população masculina (25). Isoniemi et al (35), descreveram taxa de osteoporose de 50% em pacientes climatéricas submetidas a transplante hepático, taxa que foi superior à da população de mulheres na pós-menopausa sem doença hepática, que é de aproximadamente 30% (36). Monegal et al (3), observaram correlações entre o estado menopausal e a idade cronológica em mulheres com transplante de fígado, porém não notaram influência significativa dessa variável com a massa óssea. Em estudo com pacientes não transplantadas portadoras de cirrose biliar primária, Guanabens et al, concluíram que o estado menopausal não foi fator de risco independente para osteoporose, mas sim a idade cronológica, a gravidade da doença hepática, o estágio histológico avançado e o baixo índice de massa corpórea (37).

No futuro, um número cada vez maior de mulheres com transplante de fígado alcançará o climatério e a osteoporose é uma importante questão para elas. Para compreender melhor os fatores associados e aperfeiçoar a estratégia de abordagem diagnóstica, profilática e terapêutica das alterações da massa óssea nestas mulheres, de forma não somente a aumentar a sobrevida, como

também melhorar sua qualidade de vida, conduzimos estudo de corte-transversal com mulheres transplantadas hepáticas em acompanhamento no Ambulatório da Unidade de Transplante Hepático do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Este estudo faz parte do protocolo de pesquisa intitulado “O Climatério em Pacientes Transplantadas Hepáticas” que está sendo conduzido no Ambulatório de Menopausa do Hospital da Mulher Professor Doutor José Aristodemo Pinotti – Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher da UNICAMP.

2. Objetivos

- Avaliar a massa óssea em mulheres submetidas a transplante de fígado.
- Conhecer os fatores associados à alteração da massa óssea nesta população de mulheres.

3. Sujeitos e Método

3.1. DESENHO

O desenho do estudo foi de corte-transversal.

3.2. TAMANHO AMOSTRAL

A amostra foi constituída pelo número total de pacientes que são acompanhadas desde o início das atividades da Unidade de Transplante Hepático do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp que preenchiam os critérios de inclusão e que aceitaram participar do estudo.

3.3. VARIÁVEIS

3.3.1. VARIÁVEIS INDEPENDENTES

- **Aspartato aminotransferase (AST):** enzima dosada para verificar possível dano aos hepatócitos; avaliada através de dosagem sanguínea, método cinético; aferido em U/L, classificado como variável contínua; valores de referência para mulheres adultas: 10 a 37 U/L.

- **Alanina aminotransferase (ALT):** enzima dosada para verificar possível dano aos hepatócitos; avaliada através de dosagem sanguínea, método cinético; aferido em U/L, classificado como variável contínua; valores de referência para mulheres adultas: 10 a 37 U/L.
- **Fosfatase alcalina:** família de isoenzimas, de origens variadas, principalmente hepática e óssea, útil na avaliação e no seguimento de hepatopatias e processos colestáticos em geral; avaliada através de dosagem sanguínea, método de Bowers e McComb modificado; aferido em U/L, classificado como variável contínua; valores de referência para mulheres adultas: 27 a 100 U/L.
- **Gama glutamiltransferase (Gama-GT):** enzima que tem sua atividade aumentada em quadros de colestase intra ou extra-hepática; avaliada através de dosagem sanguínea, método de Szasz modificado; aferido em U/L, classificado como variável contínua; valores de referência para mulheres adultas: 5 a 27 U/L.
- **Bilirrubina total e frações:** principal produto do metabolismo do heme da hemoglobina, útil na avaliação de hepatopatias e quadros hemolíticos; avaliada através de dosagem sanguínea, método Jendrassik; aferido em mg/dl, classificado como variável contínua; valores de referência para mulheres adultas de bilirrubina total: 0,1 a 1,9 mg/dl; valores de referência para mulheres adultas de bilirrubina indireta: 0,1 a 1,5 mg/dl; valores de referência para mulheres adultas de bilirrubina direta: 0,0 a 0,4 mg/dl.
- **Idade:** o tempo de vida decorrido desde o nascimento até a data de inclusão no estudo; medido em anos, conforme consta no prontuário médico.
- **Idade ao transplante:** o tempo de vida decorrido desde o nascimento até a data de realização do transplante hepático; medido em anos, conforme consta no prontuário médico.

- **Tempo pós-transplante:** o tempo de vida decorrido desde o transplante hepático até a data de inclusão no estudo; medido em anos, conforme consta no prontuário médico.
- **Cor ou raça:** cor da pele da mulher, autoclassificada pelo sujeito, segundo as categorias utilizadas no censo demográfico de 2000, pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE): branca, preta, parda, amarela, indígena ou outra.
- **Índice de massa corpórea (IMC):** critério de avaliação do grau de obesidade de um indivíduo; calculado pelo pesquisador no dia da entrevista – peso, em quilogramas, dividido pelo quadrado da altura, em metros: aferido em kg/m^2 (38).
- **Pressão arterial:** força com a qual o coração bombeia o sangue através dos vasos, determinada pelo volume de sangue que sai do coração e a resistência vascular periférica; medido pelo pesquisador com esfigmomanômetro manual no dia da entrevista, com o paciente sentado e após cinco minutos de repouso: aferido em valor absoluto de pressão arterial sistólica em mm de Hg e valor absoluto de pressão arterial diastólica em mm de Hg.
- **Hipertensão arterial:** níveis de pressão arterial permanentemente elevados (acima de 140x90 mmHg) em múltiplas medições realizadas em diferentes horários, condições e posições; conforme consta no prontuário médico.
- **Diabetes mellitus:** doença metabólica caracterizada pelo aumento anormal dos níveis de glicose no sangue; conforme consta no prontuário médico.
- **Estado menopausal:** para fins de classificação, consideramos como estando na pós menopausa as mulheres em amenorréia há no mínimo 12 meses ou com dosagem de FSH superior a 23 mUI/ml,

como perimenopausa as mulheres que apresentassem irregularidade menstrual sem doença anatômica causadora e dosagem de FSH inferior a 23 mUI/ml e como pré-menopausa as pacientes com ciclos menstruais regulares e dosagem de FSH inferior a 23 mUI/ml (39).

- **Menarca:** idade da mulher quando apresentou a primeira menstruação; medido em anos; conforme relatado pela paciente.
- **Doença de base indicadora do transplante hepático:** doença hepática que levou à insuficiência do órgão; conforme consta no prontuário médico.
- **Tipo de imunossupressão utilizada:** as pacientes com transplante de fígado podem receber quatro diferentes classes de imunossupressores após o procedimento: corticóides (metilprednisolona); inibidores de calcineurina (ciclosporina ou tacrolimus); inibidores de purina (azatioprina, micofenolato sódico ou micofenolato mofetil); inibidores da resposta a IL-2 (sirolimus). Estes agentes imunossupressores podem acelerar a perda de massa óssea. Observamos os tipos de imunossupressores utilizados pelas pacientes e classificamos em dois grupos, um em que era usado corticóide e outro sem o uso de corticóide.
- **Hormônio folículo estimulante (FSH):** glicoproteína produzida pela hipófise humana. Na mulher estimula o crescimento dos folículos ovarianos; avaliada através de eletroquimioluminescência; aferida em mUI/L, classificado como variável contínua; valores de referência para mulheres na pós menopausa: 23,0 a 116,3 mUI/L
- **Atividade sexual:** ter vida sexualmente ativa no período da realização da entrevista; classificado em sim ou não; conforme relato da paciente.
- **Número de partos:** número total de partos na vida da mulher; classificados em 0, 1, e 2 ou mais; conforme relato da paciente.

3.3.2. VARIÁVEIS DEPENDENTES

- **Densidade mineral óssea:** quantidade de massa óssea avaliada pela razão entre o peso do osso em gramas e a área em cm^2 ; avaliada através de equipamento de absorciometria de dupla emissão de raios-X (Hologic, Discovery, WI); classificada nos sujeitos na pós e perimenopausa de acordo com comparação com o padrão do adulto jovem (T-score) e nos sujeitos na pré-menopausa pelo padrão da idade (Z-score) (40). Classificados como osteoporose os valores de T-score menores ou iguais a -2,5 desvio-padrão. Baixa massa óssea foi considerada para valores de T-score entre -1 e -2,5 desvio-padrão. A massa óssea foi considerada normal para valores de T-score maiores que -1 desvio-padrão (41). Valores de Z-score maiores que -2 desvio-padrão foram considerados como dentro do esperado e valores de Z-score abaixo de -2 desvio-padrão foram considerados como massa óssea alterada (40). Em todos os sujeitos também foram utilizados os valores absolutos em g/cm^2 , avaliados na coluna lombar e no fêmur.

3.3.3. VARIÁVEIS DESCRITIVAS

- **Escolaridade:** última série completada na escola; conforme referido pelo sujeito: nenhuma, até a quarta série do primário, mais que a quarta série do primário até a terceira série do segundo grau, ensino superior, pós-graduação.
- **Estado marital:** situação conjugal da paciente; conforme referido pelo sujeito: com companheiro, sem companheiro.

3.4. TÉCNICAS, TESTES E EXAMES

- **Punção venosa para coleta de sangue:** com o paciente sentado, realiza-se garroteamento do membro superior para verificação do acesso venoso, dando-se preferência à veia basílica mediana, pois a cefálica é mais propensa à formação de hematomas; procede-se à higiene do local com gaze ou algodão embebido em álcool 70% através de movimento circular do centro para a periferia ou movimento retilíneo de cima para baixo ou de baixo para cima obedecendo ao mesmo sentido, permitindo-se a secagem da área por 30 segundos para evitar hemólise da amostra; punciona-se a veia do paciente com o bisel voltado para cima, com a agulha em um ângulo oblíquo de inserção de 30°, coletando-se 5 ml de sangue homogeneizando-se suavemente o tubo após a coleta; após a retirada do tubo, remove-se a agulha fazendo compressão local com gaze seca de 1 a 2 minutos para evitar a formação de hematomas ou sangramento e realiza-se curativo oclusivo no local da punção.
- **Hormônio folículo estimulante (FSH):** avaliado por dosagem sanguínea, através de eletroquimioluminescência, com kit Advia, Centauro-Siemens.
- **Aspartato aminotransferase (AST):** avaliado através de dosagem sanguínea, método cinético, com kit Liquiform-Labtest.
- **Alanina aminotransferase (ALT):** avaliado através de dosagem sanguínea, método cinético, com kit Liquiform-Labtest.
- **Fosfatase alcalina:** avaliado através de dosagem sanguínea, método de Bowers e McComb modificado, com kit Liquiform-Labtest.
- **Gama glutamiltransferase (Gama-GT):** avaliado através de dosagem sanguínea, método de Szasz modificado (Liquiform-Labtest).

- **Bilirrubina total e frações:** avaliada através de dosagem sanguínea, método Jendrassik, com kit Liquiform-Labtest.
- **Densitometria Óssea:** avaliada através de equipamento de absorciometria de dupla emissão de raios-X, marca Hologic, modelo Discovery WI. Primeiramente verifica-se se o paciente não possui nenhum implante cirúrgico de metal, corpo estranho, cateteres radiopacos ou materiais metálicos nas roupas que possam interferir na imagem e certifica-se de que não realizou exames com radioisótopos, contraste iodado ou baritado até a uma semana. Para a aquisição da imagem da coluna lombar posiciona-se o paciente em decúbito dorsal na mesa com os membros inferiores fletidos em 90° (apoiados em um bloco específico); posiciona-se o laser de 2,5 a 5 cm abaixo da crista ilíaca, centrado na linha média do paciente, que não pode se movimentar; a imagem adquirida deve incluir o 12º arco costal no limite superior. Para a aquisição da imagem do fêmur direito posiciona-se o paciente em decúbito dorsal com o membro inferior direito em leve abdução com rotação interna de 25° e o pé fletido, de forma que o fêmur fique paralelo à mesa (usando o posicionador de quadril fornecido pela Hologic); posiciona-se o laser 7,6 cm abaixo do trocânter maior (aproximadamente no mesmo nível da sínfise púbica) e 2,5 cm medialmente ao colo do fêmur (aproximadamente na linha média da coxa); o paciente não deve se movimentar. O tempo para aquisição das imagens é de aproximadamente 15 segundos cada uma.

3.5. SELEÇÃO DOS SUJEITOS

As pacientes transplantadas hepáticas foram selecionadas através da lista de pacientes que realizaram transplante hepático em acompanhamento no Ambulatório da Unidade de Transplante Hepático do Hospital das Clínicas da

Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp desde o início de suas atividades. Foi realizado contato com as pacientes através do número de telefone constando no banco de dados do HC-Unicamp para convidá-las a participar do estudo.

3.5.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Pacientes com transplante de fígado há pelo menos um ano frequentadoras do Ambulatório da Unidade de Transplante Hepático do Hospital das Clínicas da Unicamp.
- Pacientes com idade igual ou superior a 35 anos.

3.5.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Apresentar quadro clínico debilitado impossibilitando a inserção no estudo.
- Antecedente pessoal de ooforectomia bilateral prévia.
- Uso de medicação hormonal para tratamento da menopausa nos três meses prévios à inclusão no estudo.

3.6. COLETA DE DADOS

Através do número de telefone que constava no banco de dados do Hospital de Clínicas da Unicamp as pacientes foram convidadas a comparecer ao Ambulatório de Menopausa do CAISM em uma quarta-feira pela manhã conforme sua disponibilidade. Foram selecionadas pelo pesquisador e admitidas no estudo após assinarem e concordarem com o Termo de Consentimento Livre e

Esclarecido (ANEXO 2). As mulheres realizaram os exames laboratoriais no laboratório Franceschi Medicina Diagnóstica, no posto de coleta da Unicamp, após uma noite de jejum, entre as 07:00 e as 10:00 horas da manhã. Após a coleta dos exames, foi realizada entrevista seguida de exame físico geral e ginecológico com preenchimento da ficha para coleta de dados elaborada pelo pesquisador (ANEXO 1). No mesmo dia, após o término da entrevista as mulheres foram encaminhadas para realização da densitometria óssea no Hospital de Clínicas da Unicamp com equipamento Hologic, Discovery WI.

3.7. CONTROLE DE QUALIDADE

Foi realizado pré-teste em todas as fichas de coleta de dados. Os dados foram coletados sempre pelo mesmo pesquisador. O controle de qualidade do laboratório e do aparelho de densitometria óssea é feito rotineiramente.

3.8. PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram avaliados através de média, desvio-padrão e mediana. As correlações entre as medidas intervalares foram avaliadas através do coeficiente de correlação de Spearman. Para as medidas laboratoriais ou intervalares, utilizou-se a mediana como ponto de corte, sendo feita a análise por categorias abaixo e acima da mediana, através do teste exato de Fisher e do OR simples. O nível de significância assumido foi de 5% e o software utilizado para análise foi o SAS versão 9.1.3.

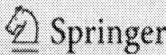
3.9. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Foram respeitados os princípios éticos promulgados pela Declaração de Helsinque e seguidas as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos contidas na resolução 196/96.

Todas as informações pessoais estão mantidas em sigilo e os procedimentos realizados no estudo foram isentos de risco e indolores.

Os sujeitos da pesquisa receberam ressarcimento financeiro das despesas com transporte e alimentação. O estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP sob o número 721/2008 e foi financiado pela FAPESP sob o número 2008/09726-6.

4. Publicação



Calcified Tissue International
The Official Journal of the European Calcified Tissue Society

Edit Account | Instructions & Forms | Log Out | Get Help Now

SCHOLARONE[®]
Manuscripts

[Main Menu](#) → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as Luiz Francisco Baccaro

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Calcified Tissue International*.

Manuscript ID: CTI-10-0154

Title: DECREASE IN BONE MASS IN WOMEN AFTER LIVER TRANSPLANTATION:
ASSOCIATED FACTORS

Authors: Baccaro, Luiz Francisco
Boin, Ilka de Fatima
Pedro, Adriana
Costa-Paiva, Lucia
Leal, Aline
Ramos, Celso
Pinto-Neto, Aarao

Date Submitted: 07-Jul-2010

 Print  Return to Dashboard

ScholarOne Manuscripts™ v4.3.0(patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2010. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.
[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)

DECREASE IN BONE MASS IN WOMEN AFTER LIVER TRANSPLANTATION: ASSOCIATED FACTORS

Baccaro LF, Boin IF, Pedro AO, Costa-Paiva LH, Leal AL, Ramos CD, Pinto-Neto AM

Baccaro LF; Pedro AO; Costa-Paiva LH; Pinto-Neto AM
Department of Gynecology, State University of Campinas
Av. Alexander Fleming, 101
Campinas, São Paulo, Brazil
e-mail: luiz.baccaro@gmail.com

Boin IF
Department of Surgery, State University of Campinas
Campinas, São Paulo, Brazil

Leal AL; Ramos CD
Department of Radiology, State University of Campinas
Campinas, São Paulo, Brazil

Abstract

In the future, an increasing number of female liver transplant recipients will reach the climacteric and osteoporosis is a frequent complication for this population. We evaluated the factors associated with decreased bone mass after liver transplantation, conducting a cross-sectional study of 23 outpatient transplant recipients followed at the State University of Campinas from 02/04/2009 to 03/03/2010. Women aged 35 years or older who had received a liver transplant for at least one year were included in the study. Patient history, liver enzyme levels, bone mineral density measured at the lumbar spine and femur were recorded. Statistical analysis was performed by Fisher's exact test, simple OR and Spearman's rank correlation coefficient. The mean age of the patients was 52.5 (± 11) years (30.4% were premenopausal, 69.6% were perimenopausal/ postmenopausal). Approximately 21% had osteoporosis and 35% had low bone mass. Postmenopausal women: OR 69.0 (95% CI 2.89-1647.18; $p < 0.0001$), aged ≥ 49 years: OR 13.33 (95% CI 1.78-100.15; $p = 0.0123$) and receiving a transplant after 44 years of age: OR 49.50 (95% CI 3.84-638.43; $p < 0.0001$) were associated with a lower bone mass. Having undergone transplantation for more than 5.8 years lowered the risk of bone mass change: OR 0.11 (95% CI 0.02-0.78; $p = 0.0361$). Clinical and laboratory variables including corticosteroid use were not associated with decreased bone mass. Understanding the prevalence and factors associated with osteoporosis in female liver transplant recipients is important to enhance the strategy for diagnosing and treating these women, aiming to improve their quality of life.

Keywords: osteoporosis; transplantation; liver; menopause

Introduction

In the last decades, liver transplantation has become widely accepted as an established form of therapy worldwide. The considerable progress in clinical transplantation has produced good long-term results, translated into a significantly increased survival of patients with severe liver disease [1].

Despite the improved survival, morbidity has been known to increase, impairing the quality of life in transplant recipients [2]. Women represent approximately one-third of liver transplant patients. The major indications for liver transplantation include primary biliary cirrhosis, posthepatitis cirrhosis and autoimmune hepatitis [3]. In Brazil, transplantation is mainly indicated for virus C hepatitis and alcoholism [4]. Osteoporosis is an important complication after liver transplantation. As a result of preexisting chronic liver disease and the high doses of immunosuppressive agents administered after the surgical procedure, the majority of liver transplantation patients progress with accelerated loss of bone mass within the first three to six months after surgery, resulting in a higher fracture risk [5]. Other factors such as vitamin D deficiency, hypogonadism, malnutrition and little physical activity, common in patients with end-stage liver disease also contribute towards a decreased bone mineral density [6]. Cholestatic diseases such as primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis have also been described as risk factors for changes in bone mass perhaps due to malabsorption of calcium and vitamin D, as well as to interference of hyperbilirubinemia in osteoblast function [7].

In addition to all the factors associated with liver transplantation, climacteric women have a greater decrease in estrogen serum level. However, a

previous study identified that age and severity of liver disease, and not menopausal status, are the main risk factors for the development of osteoporosis in women with primary biliary cirrhosis who did not undergo liver transplantation [8].

In the future, an increasing number of women receiving a liver transplant will reach the climacteric. However, there are relatively few studies related to hypogonadism after liver transplantation and those existing are limited to the male population [9]. With the purpose of identifying possible risk factors associated with bone mass changes in liver transplant recipients and enhancing the strategy for managing osteoporosis in these patients, we conducted a study of women followed at the Outpatient Clinic of the State University of Campinas (UNICAMP) who had undergone liver transplantation

Subjects and Methods

This was a cross-sectional study of female liver transplant recipients followed in the Liver Transplantation Outpatient Unit at the Clinics Hospital of the State University of Campinas Medical School (UNICAMP) from 02/04//2009 to 03/03/2010. All women aged 35 years or older who had received a liver transplant for at least a year were included in the study. Women with amenorrhea for at least 12 months or follicle-stimulating hormone measurement (FSH) higher than 23mUI/ml were considered postmenopausal. Perimenopause was established when menstrual irregularity occurred without any other anatomical cause. Women with regular menstrual cycles were premenopausal [10]. Physically debilitated patients, those with a personal history of bilateral oophorectomy or who used hormone medication to treat menopausal symptoms within three months before

enrollment were excluded from the study. Thirty-three women met the inclusion criteria. Of these, 6 did not respond to our telephone contact and 4 declined to participate in the study. Therefore, the final number of participants was 23.

Women were interviewed in the Menopause Outpatient Clinic of the Women's Integrated Healthcare Center (CAISM) at UNICAMP. The same investigator always carried out the interview with the patients concerning the following data: age, color, school education, marital status, date of transplantation, time since transplantation, disease that caused liver failure, type of immunosuppressive drug currently used, history of high blood pressure or diabetes mellitus, date of menarche, date of last menses, menstrual pattern and history of active sex life. The weight (kg), height (meters) and blood pressure (mmHg) of these women were also measured. A general physical and gynecological exam was performed. After the interview, these women underwent laboratory tests for aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyltransferase and bilirubines and bone densitometry of the lumbar spine and femur. All signed the written informed consent term before the interview. The study was approved by the Research Ethics Committee of UNICAMP under number 721/2008 and financed by FAPESP under number 2008/09726-6.

Bone Mineral Density

Bone mineral density was measured at the lumbar spine (L1-L4), total femur and femoral neck using dual energy X-ray absorptiometry (DXA) (Hologic, Discovery, WI). The effective coefficient of variation (CV) of the device is 0.45%. Bone mineral density measurements were expressed in grams by cm² and as T

and Z-scores. For diagnosis of osteoporosis with densitometry, we used the T-score value for postmenopausal and perimenopausal women. For premenopausal women, we used the Z-score [11]. Osteoporosis was defined as T-score values less than or equivalent to -2.5 standard deviations. Low bone mass was diagnosed when T-score values measured between -1 and -2.5 standard deviations. Bone mass was considered normal when T-score values were higher than -1 standard deviation [12]. Z-score values higher than -2 standard deviations were considered within the expected value and Z-scores below -2 standard deviations were classified as bone mass changes [11].

Biochemical and Hormonal Measurements

Laboratory tests were drawn from 7 to 10 a.m. on the day of the interview after an overnight fast. Samples were stored in a freezer at -20°C until tests were performed. FSH measurement was obtained by chemiluminescence (Advia, Centauro-Siemens), where the minimum concentration detected was 0.3 mUI/ml and concentrations higher than 23mUI/ml were defined as postmenopausal. AST and ALT measurements were obtained by the kinetic UV test. (Liquiform-Labtest); alkaline phosphatase was measured by the modified Bowers and McComb method (Liquiform-Labtest); Gamma-GT was measured by the modified Szasz method (Liquiform-Labtest). Total and fractionated bilirubin were measured by the Jendrassik method (Liquiform-Labtest).

Statistical Analysis

Data were assessed by the mean, standard deviation and median. Correlations between interval measurements were evaluated by Spearman's rank correlation coefficient. For laboratory or interval measurements, the median was used as the cut-off. Analysis of categories above and below the median was performed using Fisher's exact test and simple OR. The adopted significance level was 5% and SAS version 9.1.3 was the software used for analysis.

Results

Clinical and sociodemographic data of the women included in the study are shown in Table 1. The mean age of the women was 52.5 ± 10.9 years (median 49.2, range 35.0-69.6). Of these, 4 (17.4%) were 35 to 40 years of age, 1 (4.3%) was 40 to 45, 7 (30.4%) were 45 to 50, 4 (17.4%) were 55 to 60, 3 (13%) were 60 to 65 and 4 (17.4%) were 65 to 70. The mean age of the women at liver transplantation was 46.7 ± 12 years (median 44.7, range 25.7-63.9). The mean time since transplantation was 5.8 ± 3.1 years (median 5.8, range 1-11.9). Mean body mass index was 27.0 ± 4.6 (median 27.3, range 18.8-38.2). Of the 23 women, 7 (30.4%) were premenopausal, 3 (13%) were perimenopausal and 13 (56.5%) were postmenopausal. Corticosteroids were used for immunosuppression in 7 women (30.5 %), therefore 16 (69.5%) were not using corticosteroids.

Of the total number of women (23) included in the study, 13 had bone mass changes (56.5%). Of these 13 women, 5 (21.7%) had osteoporosis detected by densitometry, 3 (13%) at least in one site measured and 2 (8.7%) in the

lumbar spine, femoral neck and total femur, and 8 had low bone mass in at least one site measured (34.8 %) (Table 2).

Being postmenopausal was significantly associated with decreased bone mass: OR 69.0 (95% CI 2.89-1647.18; $p < 0.0001$). Age at the time of liver transplantation showed a statistically significant relationship. For ages > 44 years at the time of the surgical procedure, the risk was 49.50 (95% CI 3.84-638.43; $p < 0.0001$). The age of the woman at the time of the interview also had a significant correlation and there was a higher risk of bone mass change when median age was over 49 years: OR 13.33 (95% CI 1.78-100.15; $p = 0.0123$). Time since transplantation also has a significant relationship with bone mass, and time since liver transplant longer than 5.8 years is a protective factor against bone mass changes: OR 0.11 (95% CI 0.02-0.78; $p = 0.0361$).

All women included in the study were taking immunosuppressive drugs. Of these, 8 (34.8%) used tacrolimus and mycophenolate, 4 (17.4%) used tacrolimus alone, 3 (13%) used cyclosporine alone, 3 (13%) used tacrolimus and prednisone, 1 (4.3%) used cyclosporine and prednisone, 1 (4.3%) used cyclosporine and mycophenolate, 1 (4.3%) used tacrolimus, prednisone and mycophenolate, 1 (4.3%) used cyclosporine, prednisone and mycophenolate, 1 (4.3%) used tacrolimus, prednisone and azathioprine. Due to the small number of women, the different combinations of immunosuppressive drugs and the fact that glucocorticoids are the group of immunosuppressants most closely related to decreased bone mass, we chose to subdivide these women into two groups, one who used corticosteroids (30.5%), and the other who did not use these drugs (69.5%). No statistically

significant difference between both groups was observed regarding bone mass: OR 0.18 (95 % CI 0.03-1.28; $p = 0.1688$).

Disorders responsible for transplantation were classified into two groups: cholestatic (primary biliary cirrhosis, sclerosing cholangitis and biliary atresia) and noncholestatic (the remaining disorders). There was no evidence of a statistically significant difference between both groups regarding bone mass: OR 0.13 (95 % CI 0.01-1.38; $p = 0.1269$). Analysis of an association between bone mass and liver enzyme levels (aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase and gamma glutamyl-transferase) and bilirubines also failed to show any statistically significant difference.

There were no significant associations between bone mass and skin color, school education, marital status, arterial hypertension, diabetes mellitus, age at menarche, sexual activity, body mass index and parity. (Tables 3a and 3b)

To quantify a correlation between variables in which a significant association was observed, Spearman's correlation coefficient was used. It showed an inverse correlation between total lumbar spine bone mineral density in grams per cm^2 and chronological age at the present time ($p < 0.01$ $R = -0.58$); age at the time of transplantation ($p < 0.01$ $R = -0.66$) and time since onset of menopause expressed in months after the last menses ($p < 0.01$ $R = -0.62$). There was a direct correlation between total lumbar spine bone mineral density in grams per cm^2 and time since transplantation ($p = 0.02$ $R = 0.45$). (Figure 1)

Discussion

The purpose of this study was to evaluate bone mass in women aged 35 years or older receiving a liver transplant, as well as the factors associated. We observed a decreased bone mass in 56.5% of the subjects (34.8% with low bone mass and 21.7% with osteoporosis). The prevalence of bone mass changes observed is in agreement with data previously reported in the literature, which describes bone mass changes in 65.5% of cases [13] and osteoporosis among 25 and 50% of women receiving a liver transplant [14,15].

We observed a significant association of current age and older age of the patient at the time of liver transplantation with low bone mass. Regarding age at transplantation, previous studies reported an inverse relationship between bone mass and chronological age before the performance of the surgical procedure [16,17]. Low bone density before transplantation proved to be the major risk factor for the development of osteoporosis and pathological fractures after surgery [18]. In contrast, Guichelaar et al [16], described younger age and having higher bone mass before surgery as risk factors for greater bone loss in the first four months after transplantation. However, despite higher bone loss, this group of patients did not develop densitometry values compatible with low bone mass after receiving a liver transplant. We highlight that in the study by Guichelaar et al [16] the subject group was heterogeneous. Both men and women of different age groups participated in that study. Therefore, comparison between the results of the studies was hampered.

The relationship between menopausal status and bone mass in patients with chronic liver disease is yet to be clarified. In the present case study, 30.4%

of the patients were premenopausal, 13% were perimenopausal and 56.6% were postmenopausal. In perimenopausal and postmenopausal women, we observed a rate of bone mass change of 81.2%. Of these women, 50% had low bone mass and 31.2% had osteoporosis.

In this study, the rate of low bone mass in climacteric women undergoing liver transplantation was similar to that reported in women not receiving a liver transplant, which is estimated to be 37-50% [19]. The rate of osteoporosis observed in transplant climacteric recipients was similar to that observed in the postmenopausal population with no liver disease, which is approximately 30% [20]. In the present study, the prevalence of osteoporosis in climacteric patients receiving a liver transplant was lower than that reported by Isoniemi et al [15], who described osteoporosis in 50% of postmenopausal patients undergoing liver transplantation. However, it is worth mentioning that in the study by Isoniemi et al [15] approximately 94% of climacteric women who received a liver transplant were using glucocorticoids, in contrast to the present study where only 19% of the climacteric recipients were using corticosteroids.

We objectively confirmed an inverse correlation between bone mineral density and time since amenorrhea expressed in months after the last menstrual period, i.e., the longer time since the onset of menopause, the lower the bone mineral density. Monegal et al [2] observed correlations between menopausal status and chronological age, but this variable did not significantly influence bone mass. In a study of non-transplant patients with primary biliary cirrhosis, Guanabens et al [8] concluded that menopausal status was not an independent

risk factor for osteoporosis, although chronological age, severity of liver disease, advanced histological stage and low body mass index were risk factors.

In the present study, a noteworthy result was that none of the premenopausal women receiving a liver transplant had bone mass changes. This finding is in agreement with the results obtained by Guichelaar et al [16] which indicated that a gain in bone mass during the first two years after transplantation was significantly higher in premenopausal women than in perimenopausal and postmenopausal patients, probably due to the high estrogen levels in the latter group of women. However, there is a scarcity of studies to elucidate more clearly the role of hypoestrogenism in bone mass changes after liver transplantation.

Previous data have shown that the loss of bone mass occurs mainly in the first 3-6 months after liver transplantation due to an uncoupling between bone formation and bone resorption [2,16,18]. Bone histology studies have described that bone loss ceases approximately six months after liver transplantation. Bone formation tends to increase especially at the lumbar spine, resulting in the recovery of bone mass within 2 years after the procedure [2]. Our study corroborates the results demonstrated by other previous studies. There is a clear tendency to increase bone mass at the lumbar spine with time. A longer time after transplantation corresponds to a higher bone mass. On the other hand, in the femur we noticed a less close correlation between bone mass and time since transplantation. Previous studies had already made the same observation, concluding that the recovery of bone mass occurred more slowly in the femoral neck than in the lumbar spine, probably because cortical bone needs much more time to recover than trabecular bone [2,13].

The deleterious effect of glucocorticoids on bone mass has already been demonstrated [21-29]. In this study, the current use of corticosteroid as an immunosuppressive drug did not affect bone mass of liver transplant recipients, probably due to the time elapsed since liver transplant. Similar results were also obtained in previous studies [2,13,16]. An explanation for this finding may be that high corticosteroid doses are used mainly in the first months following transplantation, producing a higher loss of bone mass within the first months after the procedure [26]. In the near future, the dose of glucocorticoid used will tend to decrease, combining Tacrolimus [28,30] for treatment and lessening the influence of glucocorticoid on final bone mass.

Cholestatic diseases were associated with a higher prevalence of osteoporosis in patients who were not liver transplant recipients [31]. Malabsorption of calcium and vitamin D, in addition to interference of bilirubin levels in osteoblast function have been cited as risk factors [7]. Analysis of women with pretransplantation cholestatic disorders was also carried out to investigate whether these women were at higher risk for bone mass changes after transplantation. However, no significant differences were observed, probably due to the small number of cases in our study. The nature of the study did not permit the establishment of a cause and effect relationship. We also measured liver enzymes and bilirubin to confirm whether their increase could influence bone mass in these women. The results were not statistically significant, probably due to the same limitations cited previously.

We highlight that this study evaluated only women aged 35 years or older. The group was heterogeneous concerning menopausal status and other

characteristics. Therefore, these results should not be generalized to other liver transplant groups or any population. However, we believe that the evaluation of a group of liver transplant recipients consisting of women only is crucial for an enhanced understanding of post-transplantation hypogonadism and its interference in bone mass. We believe that in the near future the results of this initiative will contribute towards a broader understanding of the need to focus on this specific female population who deserve a better quality of life.

Conclusion

This study showed that menopausal status, older chronological age at the time of transplantation, less time since transplantation and older recipient age at the present time were the main factors associated with a decreased bone mass in women receiving a liver transplant. This subject has not been well studied and is yet to be fully understood. We believe that the data reported may help to understand the behavior of bone mass in female liver transplant recipients. Nevertheless, further studies are needed to address this issue because of the growing number of successful organ transplants.

Acknowledgements

We thank Sirlei Siani Moraes for the statistical analysis.

CONFLICTS of DISCLOSURES

Luiz Francisco Cintra Baccaro
DISCLOSURES: NONE.

Ilka de Fátima Ferreira Santana Boin
DISCLOSURES: NONE

Adriana Orcesi Pedro
DISCLOSURES: NONE

Lucia Costa-Paiva
DISCLOSURES: NONE

Aline Lopes Garcia Leal
DISCLOSURES: NONE

Celso Dario Ramos
DISCLOSURES: NONE

Aarão Mendes Pinto-Neto
DISCLOSURES: NONE

References

1. Lopez PM, Martin P (2006) Update on liver transplantation: Indications, Organ Allocation, and Long-Term Care. *The Mount Sinai Journal of Medicine* 73(8): 1056-1066.
2. Monegal A, Navasa M, Guañabens N, Peris P, Pons F, Martinez de Osaba MJ, Ordi J, Rimola A, Rodés J, Muñoz-Gómez J (2001) Bone disease after liver transplantation: a long-term prospective study of bone mass changes, hormonal status and histomorphometric characteristics. *Osteoporosis International* 12: 484-492.
3. Zieniewicz ZJ, Kaminski P, Bobrowska K, Pietrzak B, Wielgos M, Zieniewicz K, Krawczyk M (2006) Menstrual cycle and sex hormone profile in perimenopausal women after liver transplantation. *Transplantation Proceedings* 38(9): 2909-2912.
4. Boin IF, Ataide EC, Leonardi MI, Stucchi R, Sevá-Pereira T, Pereira IW, Cardoso AR, Caruy CA, Luzo A, Leonardi LS (2008) Elderly donors for HCV(+) versus non-HCV recipients: patient survival following liver transplantation. *Transplantation Proceedings*; Apr; 40(3):792-796.
5. Hommann M, Kammerer D, Lehmann G, Kornberg A, Kupper B, Daffner W, Wolf G, Settmacher U (2007) Prevention of early loss of bone mineral density after liver transplantation by prostaglandin E1. *Transplantation Procedures*; Mar; 39(2): 540-543.

6. Monegal A, Navasa M, Guañabens N, Peris P, Pons F, Martinez de Osaba MJ, Rimola A, Rodes J, Munoz-Gomez J (1997) Osteoporosis and bone mineral metabolism disorders in cirrhotic patients referred for orthotopic liver transplantation. *Calcif Tissue Int* 60: 148-154.
7. Newton J, Francis R, Prince M, et al (2001) Osteoporosis in primary biliary cirrhosis revisited. *Gut* 49:282-287.
8. Guañabens N, Parés A, Ros I, Caballeria L, Pons F, Vidal S, Monegal A, Peris P, Rodés J (2005) Severity of cholestasis and advanced histological stage but not menopausal status are the major risk factors for osteoporosis in primary biliary cirrhosis. *Journal of Hepatology* 42: 573-577.
9. Compston JE (2003) Osteoporosis after liver transplantation. *Liver Transplantation* 9 (4): 321-330.
10. Birkhauser MH, Barlow DH, Notelovitz M, Rees MC. Health Plan for the Adult Woman. International Menopause Society, 2005.
11. The International Society for Clinical Densitometry. Official Positions & Pediatric Official Positions. October 2007
12. World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis (1994) WHO Technical Report Series 843:1-129

13. Segal E, Baruch Y, Kramsky R, Raz B, Tamir A, Ish-Shalom S (2003) Predominant factors associated with bone loss in liver transplant patients – after prolonged post-transplantation period. *Clinical Transplantation* 17: 13-19.
14. Giannini S, Nobile M, Carbonare LD, Ciuffreda M, Germoni V, Iemmo RM, Gerunda GE, Sartori L, Crepaldi G (2001) Vertebral morphometry by X-ray absorptiometry before and after liver transplant: a cross-sectional study. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 13: 1201-1207.
15. Isoniemi H, Appelberg J, Nilsson CG, Makela P, Risteli J, Hockerstedt K (2001) Transdermal oestrogen therapy protects postmenopausal liver transplant women from osteoporosis. A 2-year follow-up study. *Journal of Hepatology* 34 299-305.
16. Guichelaar MMJ, Kendall R, Malinchoc M, Hay JE (2006) Bone mineral density before and after OLT: long-term follow-up and predictive factors. *Liver Transplantation* 12: 1390-1402.
17. Ninkovic M, Love SA, Tom B, Alexander GJM, Compston JE (2001) High prevalence of osteoporosis in patients with chronic liver disease prior to liver transplantation. *Calcified Tissue International* 69:321-326.
18. Hay JE. Osteoporosis in liver diseases and after liver transplantation (2003) *Journal of Hepatology* 38 856-865.
19. Sokhi RP, Anantharaju A, Kondaveeti R, Creech SD, Islam KK, Van Thiel DH (2004) Bone mineral density among cirrhotic patients awaiting liver transplantation. *Liver Transplantation* Vol 10, No 5 (May), 648-653.

20. Melton III LJ (1995) How many women have osteoporosis now? J Bone Miner Res 10:175-177.
21. Torregrosa JV, Campistol JM, Montesinos M, et al (1995) Factors involved in the bone loss of bone mineral density after renal transplantation. Transplant Proc 27:2224-2225.
22. Goldstein MF, Fallon JJ Jr, Haring R (1999) Chronic glucocorticoid therapy-induced osteoporosis in patients with obstructive lung disease. Chest 116: 1773.
23. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC (1998) Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids – potential mechanisms of their deleterious effects on bone. J Clin Invest 102:274-282.
24. Weinstein RS, Chen JR, Powers CC, Stewart SA, Landes RD, Bellido T, et al (2002) Promotion of osteoclast survival and antagonism of bisphosphonate-induced osteoclast apoptosis by glucocorticoids. J Clin Invest 109:1041-1048.
25. Morris HA, Need AG, O'Loughlin PD, Horowitz M, Bridges A, Nordin BEC (1990) Malabsorption of calcium in corticosteroid-induced osteoporosis. Calcif Tissue Int 46:305-308.
26. Sambrook P, Birmingham J, Kempler S, Kelly P, Eberl S, Pocock N, et al (1990) Corticosteroid effects on proximal femur bone loss. J Bone Miner Res 5:1211-1216.

27. Van Staa T, Leufkens HGM, Abenhaim L, Zhang B, Cooper C (2000) Use of oral corticosteroids and risk of fractures. *J Bone Miner Res* 15:993-1000.
28. Monegal A, Navasa M, Guañabens N, Peris P, Pons F, Martines de Osaba MJ, et al (2001) Bone mass and mineral metabolism in liver transplant patients treated with FK506 or cyclosporin A. *Calcif Tissue Int* 68:83-86.
29. Diaz-Guerra GM, Gomez R, Jodar E, Loinaz C, Moreno E, Hawkins F (2002) Long-term follow-up of bone mass after orthotopic liver transplantation: effect of steroid withdrawal from the immunosuppressive regimen. *Osteoporos Int* 13:147-150.
30. Stein E, Ebeling P, Shane E (2007) Post-transplantation osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin N Am*, 36 937-963.
31. Carey EJ, Balan V, Kremers WK, Hay JE (2003) Osteopenia and osteoporosis in patients with end-stage liver disease caused by hepatitis C and alcoholic liver disease: not just a cholestatic problem. *Liver Transplantation*, Vol 9, No 11 (November): pp 1166-1173.

Table 1. Clinical and sociodemographic characteristics of the women

VARIABLES	n	%
AGE		
until 49 years	11	47.8
> 49 years	12	52.2
COLOR		
White	20	87.0
Non-White	3	13.0
SCHOOL EDUCATION		
0-7 years	8	34.8
8-12 years	12	52.2
>12 years	3	13.0
MARITAL STATUS		
With a partner	14	60.9
Without a partner	9	39.1
LIVER DISEASE		
Primary sclerosing cholangitis	1	4.3
Hepatitis C	10	43.5
Primary biliary cirrhosis	4	17.4
Autoimmune hepatitis	3	13.0
Alcoholism	2	8.7
Hepatitis C + alcoholism	1	4.3
Hepatitis C + Hepatitis B	1	4.3
Fulminant hepatitis	1	4.3
MENOPAUSAL STATUS		
Premenopausal	7	30.4
Perimenopausal	3	13.0
Postmenopausal	13	56.5
SYSTEMIC ARTERIAL HYPERTENSION		
Yes	3	13.0
No	20	87.0
DIABETES MELLITUS		
Yes	5	21.7
No	18	78.3
MENARCHE		
Until 13 years	12	52.2
> 13 years	11	47.8
SEXUAL ACTIVITY		
Yes	16	69.6
No	7	30.4
BMI		
until 27	11	47.8
> 27	12	52.2
NÚMBER OF DELIVERIES		
0	2	8.7
1	9	39.1
2 or more	12	52.2

Table 2. Bone Mineral Density according to WHO criteria (n=23)

MEASUREMENT SITE	n	%
LUMBAR SPINE (L1-L4)		
Osteoporosis (T score < -2.5)	4	17.4
Low Bone Mass (T score from -1 to -2.5)	8	34.8
Normal (T score from -1 to +1 / Z-score until -2)	11	47.8
FEMORAL NECK		
Osteoporosis (T score < -2.5)	3	13.0
Low Bone Mass (T score from -1 to -2.5)	9	39.1
Normal (T score from -1 to +1 / Z-score until -2)	11	47.8
TOTAL FEMUR		
Osteoporosis (T score < -2.5)	2	8.7
Low Bone Mass (T score from -1 to -2.5)	7	30.4
Normal (T score from -1 to +1 / Z-score until -2)	14	60.9

Table 3a -Factors associated with bone mass changes in women undergoing liver transplantation (n=23)

	Bone Mass				P-value	OR (95%CI)	
	Changed		Unchanged				
	n	%	n	%			
AGE					0.0123*		
until 49 years	3	23.1	8	80.0		1.0	
> 49 years	10	76.9	2	20.0		13.33	(1.78 to 100.15)
COLOR					1.0000*		
White	11	84.6	9	90.0		0,61	(0.05 to 7.88)
Non-White	2	15.4	1	10.0		1,0	
HYPERTENSION					0.5596*		
Yes	1	7.7	2	20.0		0.33	(0.03 to 4.32)
No	12	92.3	8	80.0		1.0	
DIABETES MELLITUS					0.3394*		
Yes	4	30.8	1	10.0		4.00	(0.37 to 43.14)
No	9	69.2	9	90.0		1.0	
MENOPAUSAL STATUS					< 0.0001*		
Premenopausal	0	0.0	7	70.0		1,0	
Perimenopausal	2	15.4	1	10.0		25.00	(0.75 to 833.00)
Menopausal	11	84.6	2	20.0		69.00	(2.89 to 1647.18)
MENARCHE					0.2138*		
until 13 years	5	38.5	7	70,0		1.0	
> 13 years	8	61.5	3	30.0		3.73	(0.65 to 21.58)
TIME SINCE TRANSPLANTATION					0.0361*		
Up to 5.8 years	9	69.2	2	20.0		1.0	
> 5.8 years	4	30.8	8	80.0		0.11	(0.02 to 0.78)
AGE AT TRANSPLANTATION					< 0.0001*		
until 44 years	2	15.4	9	90.0		1.0	
> 44 years	11	84.6	1	10.0		49.50	(3.84 to 638.43)
BMI					0.6802*		
until 27	7	53.8	4	40.0		1.0	
> 27	6	46.2	6	60.0		0.57	(0.11 to 3.04)
IMMUNOSUPPRESSION					0.1688*		
Without corticosteroids	11	84.6	5	50.0		1,0	
With corticosteroids	2	15.4	5	50.0		0.18	(0.03 to 1.28)
LIVER DISEASE					0.1269*		
Cholestatic	1	4.3	4	17.4		0.13	(0.01 to 1.38)
Others	12	52.2	6	26.1		1,0	

*Fisher's exact test

Table 3b – Laboratory tests and association with bone mass changes (n=23)

	Bone Mass				P-value	OR (95%CI)
	Changed n	%	Unchanged n	%		
TOTAL BILIRUBIN					0.4136*	
until 0.67	8	61.5	4	40.0		1.00
> 0.67	5	38.5	6	60.0		0.42 (0.08 to 2.25)
DIRECT BILIRUBIN					1.0000*	
until 0.26	7	53.8	5	50.0		1.00
> 0.26	6	46.2	5	50.0		0.86 (0.16 to 4.47)
INDIRECT BILIRUBIN					0.4136*	
until 0.46	8	61.5	4	40.0		1.00
> 0.46	5	38.5	6	60.0		0.42 (0.08 to 2.25)
AST					0.4136*	
until 28	8	61.5	4	40.0		1.00
> 28	5	38.5	6	60.0		0.42 (0.08 to 2.25)
ALT					0.4136*	
until 34	8	61.5	4	40.0		1.00
> 34	5	38.5	6	60.0		0.42 (0.08 to 2.25)
GAMMA-GT					0.4015*	
until 57	6	46.2	7	70.0		1.00
> 57	7	53.8	3	30.0		2.72 (0.48 to 15.47)
ALKALINE PHOSPHATASE					0.6802*	
until 84	6	46.2	6	60.0		1.00
> 84	7	53.8	4	40.0		1.75 (0.33 to 9.30)

*Fisher's exact test

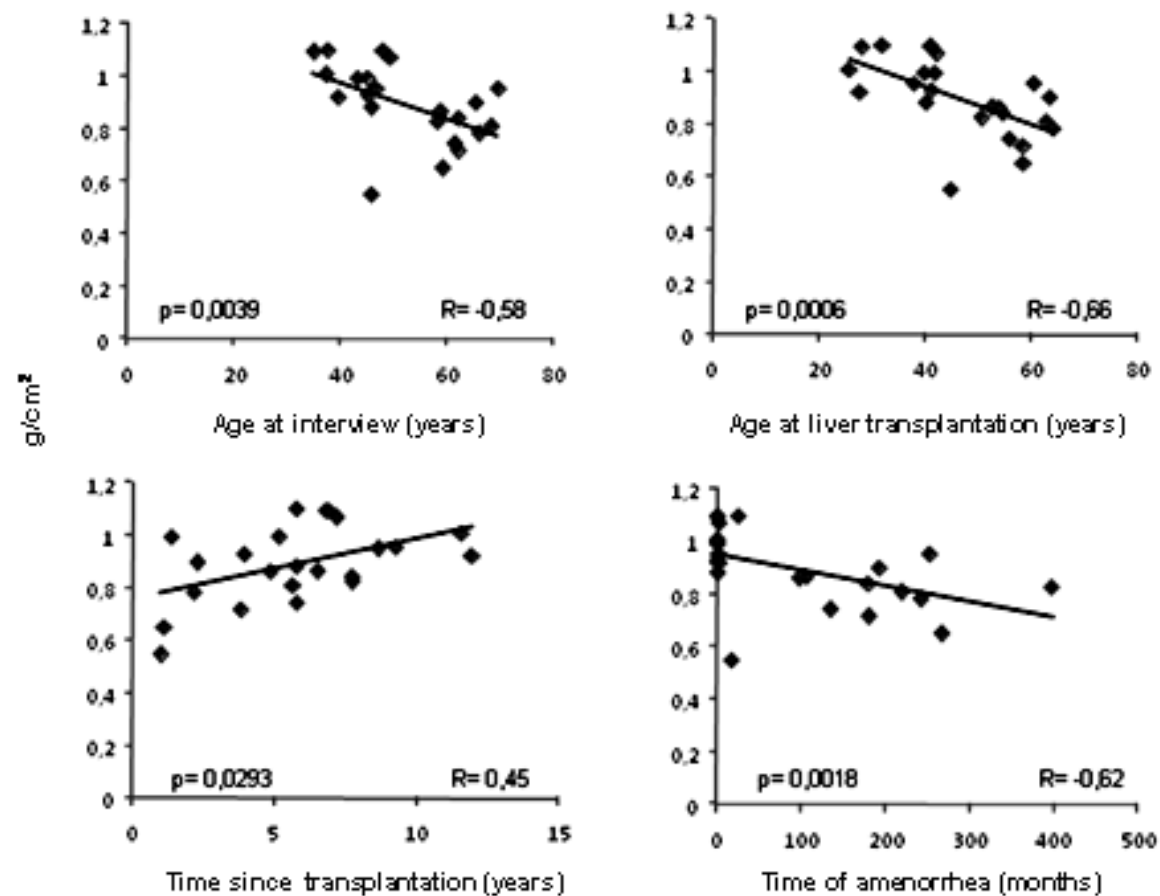


Figure 1 – Correlation between lumbar bone mass and age, time since transplantation, age at transplantation and menopausal status.

5. Conclusões

- Observou-se que 56,5% das mulheres apresentaram massa óssea diminuída. Dessas, 5 (21,73%) apresentaram osteoporose densitométrica em pelo menos um local de medida e 8 (34,78%) apresentaram baixa massa óssea em pelo menos um local de medida.
- Estar na pós-menopausa, ter maior idade ao transplante, ter menor tempo decorrido desde o transplante e ter maior idade atual foram os fatores associados à diminuição da massa óssea nesse grupo de mulheres transplantadas hepáticas.

6. Referências Bibliográficas

1. Lopez PM, Martin P. Update on liver transplantation: Indications, Organ Allocation, and Long-Term Care. *The Mount Sinai Journal of Medicine* 2006; 73(8): 1056-66.
2. Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo. Sistema Estadual de Transplantes. Período 01/01/1997 até 06/07/2010; Data da Revisão: 06/07/2010.
3. Monegal A, Navasa M, Guañabens N, Peris P, Pons F, Martinez de Osaba MJ, Ordi J, Rimola A, Rodés J, Muñoz-Gómez J. Bone disease after liver transplantation: a long-term prospective study of bone mass changes, hormonal status and histomorphometric characteristics. *Osteoporosis International* 2001; 12: 484-92.
4. Guichelaar MMJ, Kendall R, Malinchoc M, Hay JE. Bone mineral density before and after OLT: long-term follow-up and predictive factors. *Liver Transplantation* 2006; 12: 1390-402.
5. Segal E, Baruch Y, Kramsky R, Raz B, Tamir A, Ish-Shalom S. Predominant factors associated with bone loss in liver transplant patients – after prolonged post-transplantation period. *Clinical Transplantation* 2003; 17: 13-9.

6. Porayko MK, Wiesner RH, Hay JE, Krom RAF, Dickson ER, Beaver S, et al. Bone disease in liver transplant recipients: incidence, timing, and risk factors. *Transplant Proc* 1991; 23:1462-5.
7. Eastell R, Dickson ER, Hodgson SF, Wiesner RH, Porayko MK, Wahner HW, et al. Rates of vertebral bone loss before and after liver transplantation in women with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1991; 14: 296-300.
8. McDonald JA, Dunstan CR, Dilworth P, Sherbon K, Sheil AGR, Evans RA, et al. Bone loss after liver transplantation. *Hepatology* 1991; 14:613-9.
9. Arnold JC, Hauser D, Ziegler R, Kommerell B, Otto G, Theilmann L, et al. Bone disease after liver transplantation. *Transplant Proc* 1992; 24:2709-10.
10. Meys E, Fontanges E, Fourcade N, Thomasson A, Pouyet M, Delmas PD. Bone loss after orthotopic liver transplantation. *Am J Med* 1994; 97:445-50.
11. Navasa M, Monegal A, Guanabens N, Peris P, Rimola A, Munoz-Gomez J, et al. Bone fractures in liver transplant patients. *Brit J Rheumatol* 1994;33:52-5.
12. Ninkovic M, Skingle SJ, Bearcroft PWP, Bishop NJ, Alexander GJM, Compston JE. Incidence of vertebral fractures in the first three months after orthotopic liver transplantation. *Europ J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12:931-5.
13. Taillandier J, Alemanni M, Samuel D, Bismuth H. Rheumatic complications following liver transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31:1717-8.
14. Hamberg SM, Piers DA, van den Berg AP, Slooff MJH, Haagsma EB. Bone mineral density in the long term after liver transplantation. *Osteoporos Int* 2000; 11:600-6.

15. Hay JE. Osteoporosis in liver diseases and after liver transplantation. *Journal of Hepatology* 2003; 38: 856-65.
16. Torregrosa JV, Campistol JM, Montesinos M, et al. Factors involved in the bone loss of bone mineral density after renal transplantation. *Transplant Proc* 1995; 27:2224-5.
17. Goldstein MF, Fallon JJ Jr, Harring R. Chronic glucocorticoid therapy-induced osteoporosis in patients with obstructive lung disease. *Chest* 1999; 116: 1773.
18. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids – potential mechanisms of their deleterious effects on bone. *J Clin Invest* 1998; 102:274-82.
19. Weinstein RS, Chen JR, Powers CC, Stewart SA, Landes RD, Bellido T, et al. Promotion of osteoclast survival and antagonism of bisphosphonate-induced osteoclast apoptosis by glucocorticoids. *J Clin Invest* 2002; 109:1041-8.
20. Morris HA, Need AG, O'Loughlin PD, Horowitz M, Bridges A, Nordin BEC. Malabsorption of calcium in corticosteroid-induced osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1990; 46:305-8.
21. Sambrook P, Birmingham J, Kempler S, Kelly P, Eberl S, Pocock N, et al. Corticosteroid effects on proximal femur bone loss. *J Bone Miner Res* 1990; 5:1211-6.
22. Van Staa T, Leufkens HGM, Abenhaim L, Zhang B, Cooper C. Use of oral corticosteroids and risk of fractures. *J Bone Miner Res* 2000; 15:993-1000.

23. Monegal A, Navasa M, Guañabens N, Peris P, Pons F, Martines de Osaba MJ, et al. Bone mass and mineral metabolism in liver transplant patients treated with FK506 or cyclosporin A. *Calcif Tissue Int* 2001;68:83-6.
24. Diaz-Guerra GM, Gomez R, Jodar E, Loinaz C, Moreno E, Hawkins F. Long-term follow-up of bone mass after orthotopic liver transplantation: effect of steroid withdrawal from the immunosuppressive regimen. *Osteoporos Int* 2002; 13:147-50.
25. Compston JE. Osteoporosis after liver transplantation. *Liver Transplantation* 2003; 9 (4): pp 321-30.
26. Newton J, Francis R, Prince M, et al. Osteoporosis in primary biliary cirrhosis revisited. *Gut* 2001; 49:282-7.
27. Monegal A, Navasa M, Guañabens N, Peris P, Pons F, Martinez de Osaba MJ, Rimola A, Rodes J, Munoz-Gomez J. Osteoporosis and bone mineral metabolism disorders in cirrhotic patients referred for orthotopic liver transplantation. *Calcif Tissue Int* 1997; 60: 148-54.
28. Zienjewicz ZJ, Kaminski P, Bobrowska K, Pietrzak B, Wielgos M, Zieniewicz K, Krawczyk M. Menstrual cycle and sex hormone profile in perimenopausal women after liver transplantation. *Transplantation Proceedings* 2006; 38(9): 2909-12.
29. Boin IF, Ataide EC, Leonardi MI, Stucchi R, Sevá-Pereira T, Pereira IW, Cardoso AR, Caruy CA, Luzo A, Leonardi LS. Elderly donors for HCV (+) versus non-HCV recipients: patient survival following liver transplantation. *Transplantation Proceedings* 2008; 40(3): 792-6.
30. Guyton & Hall. *Tratado de Fisiologia Médica*, 9º edição, 1996.

31. Speroff L, Glass R, Kase N. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, 5° edição.
32. Parolin MB, Rabinovitch I, Urbanetz AA, Scheidemantel C, Cat ML, Coelho JCU. Impact of successful liver transplantation on reproductive function and sexuality in women with advanced liver disease. Transplantation Proceedings 2004; 36: 943-4.
33. Mass K, Quint EH, Punch M. Gynecological and reproductive function after liver transplantation. Transplantation 1996; 62:476.
34. Cundy TF, O`Grady JG, Williams R. Recovery of menstruation and pregnancy after liver transplantation. Gut 1990; 31: 337.
35. Isoniemi H, Appelberg J, Nilsson CG, Makela P, Risteli J, Hockerstedt K. Transdermal oestrogen therapy protects postmenopausal liver transplant women from osteoporosis. A 2-year follow-up study. Journal of Hepatology 2001; 34: 299-305.
36. Melton III LJ. How many women have osteoporosis now? J Bone Miner Res 1995; 10:175-7.
37. Guañabens N, Parés A, Ros I, Caballeria L, Pons F, Vidal S, Monegal A, Peris P, Rodés J. Severity of cholestasis and advanced histological stage but not menopausal status are the major risk factors for osteoporosis in primary biliary cirrhosis. Journal of Hepatology 2005; 42: 573-7.
38. WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva: World Health Organization, 2000.

39. Birkhauser MH, Barlow DH, Notelovitz M, Rees, MC. Health Plan for the Adult Woman. International Menopause Society, 2005.
40. The International Society for Clinical Densitometry. Official Positions & Pediatric Official Positions. October 2007.
41. World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. WHO Technical Report Series 1994; 843:1-129.

7. Anexos

7.1. Anexo 1 – Ficha de coleta de dados

Ficha: |____|____|

NOME: _____ HC:|_|_|_|_|_|_|_|-|_|

Data:___/___/___ Transplante hepático: |____| [1] sim [2] não

➤ Data Nascimento: ___/___/___

➤ Cor: |____|

➤ [1] Branca [2] Preta [3] Parda [4] Amarela [5] Indígena [6] Outra

➤ Escolaridade: |____|

- [1] nenhuma / 1º grau incompleto
- [2] 1º grau completo
- [3] 2º grau incompleto
- [4] 2º grau completo
- [5] superior

➤ Estado marital: |____|

- [1] com companheiro
- [2] sem companheiro

- Drogas utilizadas: _____
- Tempo pós-transplante: |____| |____| |____| meses
- Doença de base indicadora do transplante: _____
- Antecedentes pessoais: _____
- Antecedentes familiares: _____
- Antecedentes ginecológicos: G |____| P |____| C |____| A |____|
- Menarca |____| |____| anos
- Coitarca |____| |____| anos
- DUM: ____/____/____
- Ciclos regulares |____|: [1] sim [2] não
- Método anticoncepcional: _____
- Atividade sexual: |____|: [1] sim [2] não
- Nível de imunossupressão nos últimos doze meses:

Exame Físico Geral:

- Peso ____/____/____, ____/____/____
- Altura ____/____/____
- Pressão Arterial:
- Sistólica ____/____/____ mmHg
- Diastólica ____/____/____ mmHg
- IMC:

Exame ginecológico:

Score de saúde vaginal

	Elasticidade global	Secreção fluída	PH	Mucosa epitelial	Umidade
1	Nenhuma	Nenhuma	>6,1	Petéquias antes do contato	Nenhuma, mucosa inflamada
2	Pobre	Escassa	5,6-6,0	Sangra com contato leve	Nenhuma, mucosa não inflamada
3	discreta	Superficial	5,1-5,5	Sangra com contato tipo raspagem	Mínima
4	Boa	Moderada	4,7-5,0	Não friável Mucosa fina	Moderada
5	Excelente	Normal	≤4,6	Não friável Mucosa normal	Normal

Testes Laboratoriais

- FSH:
- LH:
- Estradiol:
- Progesterona:
- S-HBG:
- Testosterona total:
- Testosterona livre:
- AST:
- ALT:
- Fosfatase alcalina:
- δGT:
- Insulina sérica:
- Bilirrubina total:
- Bilirrubina direta:
- Bilirrubina indireta:
- Colesterol total:
- HDL-colesterol:
- LDL-colesterol:
- Triglicérides:
- Uréia:
- Creatinina:
- Glicemia de jejum:
- Densitometria óssea L1-L4:
Colo femoral:
- Volume ovariano:
- Contagem de folículos antrais:
- Citologia hormonal vaginal:

7.2. Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

NOME: _____

IDADE: _____

ENDEREÇO: _____

RH: _____

RG: _____

O CLIMATÉRIO EM MULHERES TRANSPLANTADAS HEPÁTICAS

Eu, _____, abaixo assinada, concordo em participar voluntariamente do estudo para avaliar se o transplante hepático interfere nos sintomas da menopausa, como calores, insônia e palpitação, na saúde dos órgãos genitais como a vagina, na qualidade do osso da mulher, nos níveis de gordura no sangue, nos níveis de hormônio, no volume e função dos ovários e na qualidade de vida das mulheres, já que o número de mulheres que realizam transplante de fígado vem aumentando muito.

Estou ciente de que o estudo consistirá primariamente de uma consulta médica com o médico pesquisador. Nesta consulta realizarei meu acompanhamento médico normal e após responderei a dois questionários aplicados pelo próprio pesquisador.

O primeiro questionário será sobre os sintomas que venho apresentando que são relacionados com o meu climatério.

O segundo questionário será composto por perguntas sobre minha qualidade de vida. Este questionário tem por objetivo avaliar o meu grau de qualidade de vida para depois compará-lo com as demais participantes do estudo. Também sei que será realizado exame físico completo, incluindo exame ginecológico para avaliar o meu grau de saúde dos órgãos genitais.

Após a consulta serei encaminhada para realização de exames complementares. Estes exames serão: densitometria óssea (exame para avaliar se possuo osteoporose), que demorará aproximadamente 20 minutos e será indolor, ecografia ginecológica (exame que consiste na introdução de um pequeno aparelho na vagina por alguns minutos para avaliar a espessura do endométrio e os ovários) e exames de sangue (para avaliar o meu estado hormonal e metabólico), sendo que serão coletados aproximadamente 30ml de sangue.

Após a realização dos exames passarei em consulta de retorno com o médico pesquisador, onde ele avaliará os meus exames e a minha evolução clínica. Após esta consulta seguirei acompanhamento de rotina no ambulatório de menopausa. Fui informada que para esses retornos receberei vale transporte.

Fui informada que os meus dados pessoais serão mantidos em sigilo pelo pesquisador e receberei uma cópia deste Termo assinado e que, caso não queira participar, ou se eu desistir de participar no meio do estudo, isso em nada prejudicará o meu atendimento no hospital.

Caso eu não compareça às consultas marcadas poderei ser chamada por telefone ou telegrama. Qualquer dúvida a respeito da pesquisa poderá ser esclarecida pelo pesquisador responsável pelo celular (11) 9246-0580. Podem ser pedidas informações junto ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP pelo telefone (19) 3521-8936.

Ciente de tudo isso concordo em participar do estudo.

DATA ____/____/____

Nome e Assinatura do Sujeito

LUIZ FRANCISCO CINTRA BACCARO – Pesquisador responsável
Ambulatório da Menopausa F: 3521-9306

7.3. Anexo 3 – Carta de Aprovação do CEP



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

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

CEP, 23/09/08.
(Grupo III)

PARECER CEP: N° 721/2008 (Este n° deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0579.0.146.000-08

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “O CLIMATÉRIO EM PACIENTES TRANSPLANTADAS HEPÁTICAS”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Luiz Francisco Cintra Baccaro

INSTITUIÇÃO: CAISM / UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 10/09/2008

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 23/09/09 (O formulário encontra-se no *site* acima)

II - OBJETIVOS

Avaliar os sintomas do climatério, o perfil hormonal e metabólico, o aspecto ecográfico ovariano, a densidade mineral óssea, e a qualidade de vida em mulheres com transplante de fígado, comparando com mulheres não transplantadas com idade e padrão menstrual semelhantes.

III - SUMÁRIO

Será realizado estudo de corte-transversal em aproximadamente trinta mulheres com transplante de fígado em acompanhamento no Ambulatório da Unidade de Transplante Hepático da Unicamp comparadas com mulheres que não foram submetidas a transplante hepático acompanhadas no Ambulatório de Menopausa da Unicamp. Os sintomas serão avaliados pelo índice do Menopause Rating Scale (MRS). A avaliação do trofismo genital será realizada pela avaliação da citologia hormonal da secreção vaginal e pelo score de saúde vaginal. Serão realizadas dosagens hormonais e metabólicas, além de densitometria óssea. Também será realizada ecografia transvaginal para aferição do volume ovariano e contagem de folículos antrais. A avaliação da qualidade de vida será realizada através do World Health Organization Quality of Life Questionnaire (WHOQOL-bref). O atendimento ginecológico e a seleção das mulheres para comparação serão realizados no ambulatório de menopausa do CAISM – Unicamp. Análise estatística: Para avaliar entre os grupos os sintomas da menopausa, a qualidade de vida, o score de saúde vaginal, o perfil metabólico, os níveis hormonais, volume ovariano e contagem de folículos antrais será utilizado o teste t de Student, quando as variáveis apresentarem distribuição normal. Se a suposição de normalidade não for verificada, então será utilizado o teste de Mann-Whitney. A associação entre densidade mineral óssea e citologia hormonal vaginal com os grupos será verificada através do teste Qui-quadrado.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O projeto apresenta-se bem redigido e com metodologia adequada que permitirá ao pesquisador formalizar suas conclusões finais. Os critérios de inclusão, exclusão,



acompanhamento e descontinuação dos sujeitos estão bem definidos; o tamanho amostral será constituído pelo número total de pacientes que são acompanhadas desde o início das atividades da Unidade de Transplante Hepático do Hospital das Clínicas da Unicamp. A análise estatística é adequada para o tipo de estudo. Os aspectos éticos foram considerados e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido está redigido de forma adequada. O orçamento é detalhado.

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, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa supracitada.

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 IX Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 23 de setembro de 2008.

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