Ana Paula Tanaka Hayashi

**Eficácia e segurança da suplementação de creatina em
pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Ciências Médicas

Programa de Ciências Médicas
Área de concentração: Processos imunes e
infecciosos
Orientador: Prof. Dr. Bruno Gualano

**São Paulo
2013**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Hayashi, Ana Paula Tanaka

Eficácia e segurança da suplementação de creatina em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil / Ana Paula Tanaka Hayashi. -- São Paulo, 2013.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Ciências Médicas. Área de concentração: Processos Imunes e Infecciosos.

Orientador: Bruno Gualano.

Descritores: 1.Creatina 2.Lúpus eritematoso sistêmico 3.Músculo esquelético 4.Força muscular 5.Testes de função renal 6.Qualidade de vida 7.Testes de função respiratória 8.Doenças autoimunes 9.Criança 10.Adolescente

USP/FM/DBD-352/13

Aos meus pais, Nobuco e Júlio,
pelo amor incondicional e carinho dedicados todos esses anos.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Bruno Gualano que se fez presente em cada momento da minha formação acadêmica e a quem tenho como exemplo devido à sua competência e integridade profissional. Muito obrigada pela oportunidade, por toda a paciência, tempo e dedicação direcionados ao meu ensino durante esses três anos.

Meus sinceros agradecimentos à Dr.^a Ana Lúcia de Sá Pinto e a Dr.^a Fernanda Rodrigues Lima por toda a confiança depositada em mim para executar este trabalho e por todo o conhecimento que adquiri durante as discussões científicas.

Agradeço ao Prof. Dr. Clóvis Artur Almeida da Silva, a Dr.^a Adriana, a Dr.^a Lúcia e a Dr.^a Nádia pelo carinho e atenção que vocês deram a este projeto. Ainda, a todos os residentes e pós-graduandos da Reumatologia do Instituto da Criança que colaboraram com as avaliações de cada paciente (em especial à Dr.^a Clarissa, a Dr.^a Érica, e a Dr.^a Kátia).

Muito obrigada a todos os voluntários e responsáveis que participaram do projeto, pois sem vocês não seria possível à realização deste trabalho.

Aos meus colegas e amigos Thalita Dassouki e Luiz Perandini que, pacientemente, me ensinaram e ajudaram durante todo o processo. À todos os amigos e colegas do Laboratório de Nutrição e do LACRE pela amizade e almoços dedicados nesses anos. Ainda, aproveito para agradecer as queridas Ana Jéssica Pinto, Rafaela Schmidt, Rebeca Lugaresi e Roberta Potenza por toda a ajuda e dedicação.

Um agradecimento especial à minha colega de pós-graduação e, hoje, grande amiga, Marina Yazigi Solis, por toda ajuda e amizade durante esta etapa, me apoiando nos dias em que todos os exames atrasavam.

À minha família, principalmente aos meus pais, Nobuco e Júlio, e ao meu irmão, Marcelo, por sempre me apoiarem e incentivarem, por todo o carinho, amor e compreensão.

Ao meu querido, Felipe Granado e Sá, que sempre me deu todo apoio necessário para eu seguir em frente. Meus sinceros agradecimentos por todo carinho e amor dedicados ao longo desses anos, mesmo nos meus dias mais difíceis.

Agradeço também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro e à Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) pelo enorme aprendizado e pelas inúmeras oportunidades de crescimento profissional.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	7
2.1. Objetivos específicos	7
3. MÉTODOS	8
3.1. Plano de trabalho	8
3.2. Protocolo experimental	9
3.3. Recrutamento e seleção dos voluntários	10
3.4. Consumo alimentar	13
3.5. Suplementação e vendamento	14
3.6. Exames clínicos	14
3.7. Fosforilcreatina intramuscular	15
3.8. Avaliação do estágio puberal, nível de atividade física, capacidade física, antropometria e composição corporal	16
3.9. Exames laboratoriais e marcadores bioquímicos do remodelamento ósseo	19
3.10. Parâmetros de capacidade funcional e qualidade de vida	20
3.11. Clearance de ⁵¹ Cr-EDTA	21
3.12. Cálculo do tamanho da amostra e análise estatística	21
4. RESULTADOS	22
4.1. Pacientes	22
4.2. Consumo alimentar	25
4.3. Suplementação e vendamento	25
4.4. Exames clínicos	26
4.5. Fosforilcreatina muscular	26
4.6. Avaliação do estágio puberal, nível de atividade física, capacidade física, antropometria e composição corporal	28
4.7. Parâmetros de capacidade funcional e qualidade de vida	34
4.8. Efeitos adversos e avaliações de função renal	34
4.9. Análise <i>post-hoc</i>	35
5. DISCUSSÃO	39
6. CONCLUSÃO	44
7. REFERÊNCIAS	45

Apêndice - Artigo “Efficacy and safety of creatine supplementation in childhood-onset systemic lupus erythematosus: a randomized double-blind placebo-controlled cross-over trial”, submetido para publicação na revista “Arthritis research & therapy” em setembro de 2013

LISTA DE ABREVIATURAS

31P-ERM	Espectroscopia de fósforo por ressonância magnética
ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina trifosfato
CHAQ	<i>Childhood Health Assessment Questionnaire</i>
CO ₂	Dióxido de carbono
Cr	Creatina
CTX	Concentrações de telo-peptídeos carboxi-terminais do colágenotipo I
DM	Dermatomiosite
DMO	Densidade mineral óssea
DMOA	Densidade mineral óssea aparente
DXA	Densitometria de dupla emissão com fonte de raios-X
EEFE-USP	Escola de educação física e esporte da Universidade de São Paulo
EVA	Escala Visual Analógica
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
ICr	Instituto da Criança
IMC	Índice de massa corporal
INRAD	Instituto de radiologia
IPAQ	<i>International Physical Activity Questionnaire</i>
ISIS	<i>Image selected in vivo spectroscopy</i>
LACRE	Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia
LAV	Limiar anaeróbio ventilatório
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
LESJ	Lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil
O ₂	Oxigênio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PedsQL	Questionário pediátrico de qualidade de vida
PCr	Fosforilcreatina
PCR	Ponto de compensação P1NP Pró-peptídeos amino-terminais do pró-colágeno tipo I
PM	Polimiosite
RM	Repetição máxima
SLEDAI-2K	<i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity</i>
SLICC /ACR	<i>Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR Damage Index</i>
TE	Tempo de eco
VE	Ventilação pulmonar
VCO ₂	Produção de dióxido de carbono
VO ₂	Consumo de oxigênio
VO ₂ máx	Consumo máximo de O ₂
Z-escore	Escore de desvio-padrão

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Desenho experimental do projeto.....	10
Figura 2. Fluxograma do pacientes com LESJ.....	24
Figura 3. A) Dados individuais do conteúdo intramuscular de PCr dos pacientes nas diferentes condições e B) Escores delta para conteúdo intramuscular de PCr.....	27
Figura 4. Dados individuais de depuração de ^{51}Cr -EDTA nas duas condições experimentais.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características demográficas e regime de medicamentos antes da intervenção.....	12
Tabela 2. Consumo alimentar.....	25
Tabela 3. Estágio de maturação sexual e nível de atividade física.....	29
Tabela 4. Caracterização da força e da função muscular.....	30
Tabela 5. Capacidade aeróbia.....	31
Tabela 6. Dados antropométricos e composição corporal.....	32
Tabela 7. Massa óssea e marcadores bioquímicos do remodelamento ósseo.....	33
Tabela 8. Parâmetros de qualidade de vida e capacidade funcional.....	36
Tabela 9. Exames laboratoriais.....	37
Tabela 10. Parâmetros de função renal.....	38

RESUMO

Hayashi APT. Eficácia e segurança da suplementação de creatina em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

Introdução: A suplementação de creatina tem surgido na literatura como uma potencial estratégia terapêutica não farmacológica em diversas condições caracterizadas por disfunções musculares e baixa massa muscular, incluindo as doenças reumatológicas pediátricas. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia e a segurança da suplementação de creatina em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil (LESJ). **Métodos:** Trata-se de um estudo duplo-cego, *crossover*, balanceado e controlado por placebo. Os voluntários (n = 15) foram randomizados em duas condições que receberam creatina ou dextrose por 12 semanas, interpassadas por um período de *washout* de 8 semanas. A função muscular foi avaliada por testes de uma repetição máxima (1 RM), *Timed-Up-And-Go*, *Timed-Stands* e de preensão manual. Ainda, foram avaliados a composição corporal, os marcadores bioquímicos do remodelamento ósseo, a aptidão aeróbia, os parâmetros de qualidade de vida e a capacidade funcional dos voluntários. As possíveis alterações no consumo alimentar foram avaliadas por três recordatórios alimentares de 24h, enquanto o conteúdo de fosforilcreatina muscular foi avaliado por meio de espectroscopia de fósforo por ressonância magnética (31P-ERM). A segurança da intervenção foi avaliada por parâmetros laboratoriais e por *clearance* de ⁵¹Cr-EDTA e, por fim, os eventos adversos foram registrados durante todo o estudo. **Resultados:** Não houve diferença significativa no conteúdo intramuscular de

fosforilcreatina entre as condições, antes e após as intervenções (creatina - Pré: $20,5 \pm 2,6$ / Pós: $20,4 \pm 4,1$; placebo - Pré: $19,8 \pm 2,0$ / Pós: $20,2 \pm 3,2$ mmol/kg peso úmido; $p = 0,70$ para interação entre condições). Ainda, provavelmente, como consequência do conteúdo intramuscular ter se mantido inalterado, não houve diferença significativa entre as condições para todos os parâmetros analisados ($p > 0,05$). Além do *clearance* de ^{51}Cr -EDTA não ter sido alterado com a suplementação de creatina, nenhum efeito adverso foi observado. **Conclusão:** O protocolo de suplementação de creatina (0,1 g/kg/d) por 12 semanas foi bem tolerado e livre de efeitos adversos. Entretanto, a suplementação de creatina não foi eficaz no aumento do conteúdo intramuscular de fosforilcreatina, na melhora da função muscular, aptidão aeróbia, composição corporal e parâmetros de qualidade de vida em pacientes com LESJ.

Descritores: Creatina; Lúpus eritematoso sistêmico; Músculo esquelético; Força muscular; Testes de função renal; Qualidade de vida; Testes de função respiratória; Doenças autoimunes; Criança; Adolescente.

ABSTRACT

Hayashi APT. Efficacy and safety of creatine supplementation in childhood-onset systemic lupus erythematosus [master's thesis]. São Paulo: School of Medicine, University of São Paulo; 2013.

Introduction: Creatine supplementation has emerged as a promising non-pharmacological therapeutic strategy to counteract muscle dysfunction and low lean mass in a variety of conditions, including in pediatric and rheumatic diseases. The objective of this study was to examine the efficacy and safety of creatine supplementation in childhood systemic lupus erythematosus (C-SLE).

Methods: C-SLE patients with mild disease activity (n=15) received placebo or creatine supplementation in a randomized fashion using a crossover, double-blind, repeated-measures design. The subjects were assessed at baseline and after 12 weeks in each arm, interspersed by a 8-week washout period. The primary outcomes was muscle function, as assessed by a battery of tests including one-maximum repetition (1-RM) tests, the Timed-Up-And-Go test, the Timed-Stands test, and the handgrip test. Secondary outcomes included body composition, biochemical markers of bone remodeling, aerobic conditioning, quality of life, and physical capacity. Possible differences in dietary intake were assessed by three 24-h dietary recalls. Muscle phosphorylcreatine content was measured through phosphorus magnetic resonance spectroscopy (31P-MRS). The safety of the intervention was assessed by laboratory parameters and kidney function was

measured by the ^{51}Cr -EDTA clearance. Additionally, self-reported adverse events were recorded throughout the trial.

Results: Intramuscular phosphorylcreatine content was not significantly different between creatine and placebo before or after the intervention (creatine - Pre: 20.5 ± 2.6 , Post: 20.4 ± 4.1 , placebo - Pre: 19.8 ± 2.0 ; Post: 20.2 ± 3.2 mmol/kg wet muscle; $p = 0.70$ for interaction between conditions). In addition, probably as a consequence of the lack of change in intramuscular phosphorylcreatine content, there were no significant changes between placebo and creatine for any muscle function and aerobic conditioning parameters, lean mass, fat mass, bone mass, and quality of life scores ($p > 0.05$). The ^{51}Cr -EDTA clearance was not altered by creatine supplementation and no side effects were noticed.

Conclusion: a 12-week creatine supplementation protocol at 0.1 g/kg/d is well tolerable and free of adverse effects but did not affect intramuscular phosphorylcreatine, muscle function, free-fat mass or quality of life in C-SLE patients with mild disease activity.

Descriptors: Creatine, Systemic lupus erythematosus, Muscle skeletal, Muscle strength, Kidney function tests, Quality of life, Respiratory function tests, Autoimmune diseases, Child, Adolescent.

1. INTRODUÇÃO

O lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil (LESJ) é uma doença autoimune que afeta o tecido conjuntivo durante a infância ou adolescência, possui etiologia desconhecida e multifatorial, envolvendo predisposição genética e fatores ambientais. O LESJ acomete 3,3-8,8 a cada 100.000 crianças (Levy et al., 2012), sendo que 20% dos casos são diagnosticados antes dos 16 anos de idade (Ravelli et al., 2005). Trata-se de uma doença mais prevalente no sexo feminino, caracterizada pela produção anormal de anticorpos patogênicos e complexos imunes, os quais são depositados em tecidos e órgãos, ocasionando inflamação e vasculopatia (Klein-Gitelman et al., 2002; Klasser et al., 2007; Levy et al., 2012).

Nessa doença inflamatória crônica existe um variado espectro de sintomas clínicos que evolui com fases de exacerbação e períodos de remissão (Sato, 2004). Além disso, tem sido considerado que pacientes com LESJ tem um prognóstico pior do que pacientes com a doença na idade adulta. Entretanto, a sobrevida destes pacientes vem aumentando significativamente nas últimas décadas, sendo as principais razões para essa melhora o diagnóstico precoce da doença e a eficácia dos atuais protocolos de tratamento (Ravelli et al., 2005; Doria et al., 2008; Watson et al., 2012).

Como resultado da crescente expectativa de vida, os pacientes com LESJ agora são confrontados com graves eventos adversos associados ao tratamento e/ou a própria doença, incluindo, fraqueza muscular, diminuição de massa óssea e/ou muscular, diminuição da capacidade física funcional e piora da qualidade de vida (Klein-Gitelman et al., 2002; Ravelli et al., 2003, 2005; Alsufyani et al., 2005; Lilleby et al., 2007). Fatos estes, que podem levar a problemas relacionados com a adaptação física e

psicológica de uma doença crônica. Por estas razões, o tratamento de pacientes com LESJ atualmente é dirigido não só a prevenir a morte, mas também a reduzir os danos permanentes decorrentes da doença, do tratamento em si ou das complicações causadas por ambos (Ravelli et al., 2005). Neste contexto, medidas não medicamentosas potencialmente capazes de atenuar essas manifestações clínicas são de grande valia. Dentre estas, a suplementação de creatina (Cr) emerge como uma potencial estratégia terapêutica adjuvante para pacientes com LESJ.

A Cr (ácido α -metil guanidino acético) é uma amina de ocorrência natural encontrada primariamente no músculo esquelético e sintetizada endogenamente por órgãos como fígado, rins e pâncreas, a partir dos aminoácidos glicina, metionina e arginina (Walker et al., 1976). Esse composto nitrogenado também pode ser obtido através da dieta, presente principalmente em carnes vermelhas e peixes. A produção endógena (1 g/dia), somada à obtida via alimentação (1 g/dia para dietas onívoras), se iguala a taxa de degradação espontânea, por reação não enzimática, de Cr e fosforilcreatina (PCr) sob a forma de creatinina, a qual é excretada na urina após a filtração renal (Walker et al., 1979). No corpo humano, a Cr pode ser encontrada nas formas livres (30 a 40%) e fosforiladas (60 a 70%). Cerca de 95% do seu conteúdo total é armazenado no músculo esquelético e o restante situa-se no coração, músculos lisos, cérebro e testículos (Terjung et al., 2000; Wyss et al., 2000).

A Cr exerce uma importante função na rápida energia provida durante a contração muscular, envolvendo a transferência do grupo N- fosforil, através de reação catalizada pela enzima creatina quinase, da PCr, sua forma fosforilada, para moléculas de adenosina difosfato (ADP), ressintetizando adenosina trifosfato (ATP) em condições de alta demanda energética (Gualano et al., 2009). Além disso, a Cr é responsável pela transferência de energia da mitocôndria para o citosol, especialmente em tecidos cuja

demanda energética é elevada, como músculo esquelético e cérebro. Outras importantes funções desse sistema envolvem: a) manutenção das concentrações de ATP/ ADP, como o aumento da respiração mitocondrial, b) atenuação da elevação de ADP, c) prevenção no estresse oxidativo, d) efeito tamponante via íons hidrogênio, e) ativação da glicólise e glicogenólise por meio da liberação de fosfato inorgânico, integrando, dessa forma, a degradação de carboidratos e Cr com intuito de prover energia no exercício (Wyss et al., 2000).

Desde que foi demonstrado que a suplementação de Cr (20 g/dia por 5-7 dias) promoveria um aumento de até 20% nas concentrações de Cr e PCr intramusculares (Harris et al., 1992), diversos estudos avaliaram o efeito ergogênico deste suplemento nutricional, sobretudo quando combinado ao treinamento físico. De fato, tem-se demonstrado consistentemente melhora do rendimento físico-esportivo em atividades de alta intensidade e curta duração, em sujeitos saudáveis e atletas (Volek et al., 1999; Hoffman et al., 2005). Além disso, ganhos significativos de massa magra têm sido reportados (Nissen; Sharp, 2003; Deldicque et al., 2008; Safdar, 2008). Com base nestas evidências o interesse nos possíveis efeitos terapêuticos da suplementação de Cr tem crescido vertiginosamente, sendo este um emergente campo de pesquisa e intervenção em pacientes acometidos por doenças caracterizadas por fraqueza muscular, atrofia e disfunções mitocondriais, tais como as miopatias inflamatórias, distrofias musculares e câncer (Kley et al., 2008; Gualano et al., 2010a).

O estudo de Tarnopolsky e Parise (1999) demonstrou que pacientes com miopatias inflamatórias possuem conteúdos intramusculares de Cr e PCr reduzidos. Achados semelhantes foram observados por Park et al. (1998). Esses autores, por meio de espectroscopia de fósforo por ressonância magnética (^{31}P -ERM), demonstraram que pacientes com polimiosite (PM) e dermatomiosite (DM) apresentavam redução nas

concentrações intramusculares de ATP e PCr, quando comparados a sujeitos saudáveis. Além disso, foram observados decréscimos no potencial oxidativo e na capacidade total de oxidação desses pacientes (Takken et al., 2003). Para completar esses achados, Tarnopolsky e Martin (1999) reportaram ganhos de peso e força muscular em pacientes com distrofias musculares, miopatias inflamatórias e desordens neurológicas periféricas quando suplementados com Cr por 11 dias.

Ainda, é interessante notar que a suplementação com Cr foi aplicada como tratamento adjuvante em número crescente de doenças pediátricas caracterizadas por perturbações do sistema musculoesquelético. Foi demonstrado que a suplementação de Cr foi eficaz na promoção de melhora significativa da função muscular em pacientes jovens com distrofinopatias (Louis et al., 2003; Tarnopolsky et al., 2004). De fato, uma meta-análise de seis ensaios em distrofias musculares, incluindo 192 participantes, revelou um aumento significativo na força muscular no grupo suplementado com Cr quando comparado ao grupo placebo (Kley et al., 2008). Os efeitos positivos da suplementação com Cr é susceptível de ser explicado por um aumento no conteúdo de Cr e PCr intramuscular, o que pode melhorar o fornecimento de energia e, conseqüentemente, melhorar a resistência e função muscular (para revisão, ver Gualano et al., 2012). Por outro lado, a suplementação de Cr também tem sido avaliada no metabolismo muscular por ativação de células satélite (Olsen et al., 2006) e fatores de crescimento específicos do músculo (por exemplo, IGF-1, 4EBP-1) (Deldicque et al., 2005).

Essas doenças supracitadas são caracterizadas por progressiva fraqueza/fadiga muscular e diminuição da capacidade física funcional (Mastaglia et al., 2003). As possíveis causas para tais sintomas incluem: elevações sistêmicas e intramusculares de marcadores inflamatórios, aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias,

hipoatividade, e o efeito do tratamento com glicocorticóides no catabolismo protéico (Maillard et al., 2005; Takken et al., 2005, 2008; Gualano et al., 2010a; Gualano et al., 2010b).

Hipoteticamente, pacientes com LESJ também poderiam se beneficiar da suplementação de Cr, uma vez que, semelhantemente ao que ocorre com esses pacientes, indivíduos com LESJ apresentam sintomas de fadiga muscular e uma forte intolerância ao esforço físico, principalmente durante o período de atividade da doença, quando se observa atrofia muscular, perda de força e função, diminuição nas atividades físicas diárias e, conseqüentemente, piora na qualidade de vida (Wysenbeek et al., 1993; Houghton et al., 2008; Alexanderson et al., 2005, 2007; Ravelli et al., 2010;).

Dentre os fatores responsáveis por tais sintomas, destacam-se, além da própria doença, a inatividade física e o uso crônico de glicocorticóides. No que tange ao último, cabe ressaltar que um estudo demonstrou que a suplementação de Cr reverteu completamente os efeitos atróficos de corticoesteróides (dexametasona) em fibras musculares do tipo I, IIa e IIb em modelo animal (Menezes et al., 2007). Sabe-se que os glicocorticóides, terapia primária utilizada no tratamento de LESJ, induzem perda de massa óssea nos pacientes e, embora tais achados não possam ser prontamente extrapolados para humanos, esse estudo sugere que a Cr possui um grande potencial terapêutico no tratamento de atrofia induzida por glicocorticóides, a exemplo do que ocorre em LESJ. Interessantemente, tem-se demonstrado que a suplementação de Cr poderia, também, atenuar a perda de massa óssea em crianças tratadas com corticosteróides (Tarnopolsky; Martin, 1999b), sendo este outro relevante potencial terapêutico da Cr em LESJ a ser investigado.

Por fim, é importante ainda ressaltar que a suplementação de Cr não possui efeitos adversos conhecidos em crianças e adolescentes (Pluim et al., 2010; Merwe et

al., 2009). Embora alguns acreditem que a ingestão crônica desse suplemento possa levar ao aumento da produção de creatinina, que por sua vez, acarretaria em uma sobrecarga renal (Ferreira et al., 2005), nosso grupo e outros (Poortmans et al., 1997, 1999, 2000, 2005; Gualano et al. 2008a, 2008b, 2009) têm demonstrado repetidamente que altas doses de Cr não prejudicam a função renal, mesmo em pacientes com ou sob risco de doença renal crônica (Gualano et al., 2010c). Entretanto, tendo em vista que não há estudo atestando a segurança da suplementação de Cr em pacientes com LESJ, faz-se prudente e necessária tal investigação.

Diante do exposto, portanto, pode-se inferir que, de fato, há um grande potencial terapêutico da suplementação de Cr em pacientes com LESJ. Entretanto, apenas estudos duplo-cegos, aleatorizados e controlados por placebo poderão responder se esse suplemento é efetivo e seguro nesta população. Desta forma, torna-se relevante investigar os possíveis efeitos terapêuticos da suplementação de Cr em pacientes com LESJ.

2. OBJETIVO

Investigar a efetividade e a segurança da suplementação de Cr de pacientes com LESJ.

2.1. Objetivos específicos

- 1) Determinar os efeitos da suplementação de Cr sobre a atividade da doença, qualidade de vida e capacidade física em pacientes com LESJ;
- 2) Investigar os efeitos da suplementação de Cr sobre as concentrações intramusculares de PCr e ATP em pacientes com LESJ; e
- 3) Avaliar a segurança da suplementação de Cr sobre a função renal em pacientes com LESJ.

3. MÉTODOS

3.1. Plano de trabalho

O trabalho foi realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP). A equipe de pesquisa foi composta por quatro médicos reumatologistas (Dr^a. Ana Lúcia S. Pinto e Dr^a Fernanda Rodrigues Lima - Reumatologia HC-FMUSP; Prof. Dr. Clóvis Artur da Silva e Dr^a Adriana S. Maluf - Reumatologia Instituto da Criança ICr-FMUSP), responsáveis por recrutar, selecionar e acompanhar os voluntários durante o seguimento. As avaliações de 31P-ERM foram realizadas sob supervisão da Dra. Maria C. G. Otaduy (Instituto de Radiologia - INRAD HC-FMUSP). As avaliações de função renal foram realizadas sob supervisão de médico nefrologista (Dr. Marcelo Tatit Sapienza - Medicina Nuclear INRAD HC-FMUSP). A densidade mineral óssea e a composição corporal foram avaliadas por meio de densitometria de dupla emissão com fonte de raios-X (DXA), no Laboratório de Metabolismo Ósseo da FMUSP, sob supervisão da Prof^a. Dr^a. Rosa Maria Rodrigues Pereira. Os testes físicos (realizados no Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia - LACRE) foram conduzidos por especialistas treinados. Os recordatórios alimentares e os questionários foram aplicados pela aluna de mestrado Ana Paula Tanaka Hayashi (Reumatologia HC-FMUSP), que supervisionou todas as etapas experimentais da pesquisa, sob orientação do Prof. Dr. Bruno Gualano (EEFE-USP).

3.2. Protocolo experimental

Trata-se de um estudo clínico randomizado, duplo-cego, *cross-over*, contrabalanceado e controlado por placebo. O processo de randomização foi estratificado por força muscular e estágio de maturação sexual. O período de suplementação (placebo ou Cr) foi de 12 semanas, interpassado por um período de *washout* de 8 semanas. O projeto foi inscrito no banco de ensaios aleatorizados norte-americano *ClinicalTrial* (www.clinicaltrial.gov – registrado como NCT01217320), conforme solicitado pelos jornais científicos de grande impacto na área de saúde.

No período basal (Pré) e após as 12 semanas (Pós) de intervenção, os pacientes foram avaliados em relação à atividade da doença, a função muscular, a capacidade física, a qualidade de vida e os possíveis efeitos adversos da suplementação. Além disso, foram realizados exames bioquímicos para verificar a função renal e a atividade de enzimas musculares. A 31P-ERM foi realizada para mensuração das concentrações intramusculares de PCr. Todos os exames foram realizados no período inicial (Pré 1), após a primeira intervenção (Pós 1), após o período de *washout* (Pré 2) e após a segunda intervenção (Pós 2). A Figura 1 ilustra o modelo experimental do estudo.

Figura 1. Desenho experimental do projeto

3.3. Recrutamento e seleção de voluntários

O recrutamento dos pacientes foi realizado ICr-FMUSP. Foram considerados elegíveis pacientes de ambos os gêneros, diagnosticados com LESJ, de acordo com os critérios descritos pelo *American College of Rheumatology* (ACR) (Hochberg, 1997), com score do *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity index* 2000 (SLEDAI-2K) menor que oito. Os pacientes selecionados eram sedentários e mantinham estável o tratamento medicamentoso (durante pelo menos 2 meses anteriores ao início do

protocolo e durante todo o período de intervenção), com doses de prednisona inferiores a 20 mg/dia. Foram considerados critérios de exclusão: 1) macroalbuminúria, 2) taxa de filtração glomerular menor que 30 mL/min/1,73m², 3) uso de contraceptivos hormonais, 4) gravidez, 5) diabetes *mellitus*, 6) hipotireoidismo, 7) praticante de atividade física regular nos últimos 6 meses e 8) uso de corticosteróides acima de 20 mg/dia. As características demográficas basais e o regime de medicamentos utilizados no ingresso dos pacientes são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Características demográficas e regime de medicamentos antes da intervenção

Paciente	Gênero (M/F)	Idade (anos)	Estágio de matuação sexual de Tanner	Tempo de doença (anos)	Dose atual de prednisona (mg/dia)	Uso de outros imunossupressores	Uso de antimaláricos	Dose cumulativa de prednisona (g Total)	Atividade da doença (SLEDAI- 2K)	Dano cumulativo (SLICC/ACR)
1	M	14	G2P2	4	0	-	HCLQ	26,9	0	3
2	M	16	G4P5	5	0	-	HCLQ	*	4	0
3	F	14	M3P4	2	10	AZA, MMF	HCLQ	18,6	4	0
4	F	13	M3P3	3	0	AZA	HCLQ	20,5	2	0
5	F	18	M5P5	4	0	MMF	HCLQ	23,2	2	2
6	M	17	G4P5	11	5	MMF	-	17,4	6	0
7	F	13	M3P4	0,6	15	-	HCLQ	1,8	2	0
8	M	14	G4P4	4	0	-	HCLQ	12,1	0	0
9	F	17	M3P4	9	0	AZA	HCLQ	25,2	4	0
10	F	17	M4P5	2	0	AZA	HCLQ	2,8	2	0
11	F	13	M3P4	2	5	AZA; MTX	HCLQ	12,9	4	0
12	F	13	M3P4	2	5	-	HCLQ	4,3	4	0
13	F	15	M2P2	3	2,5	MMF	HCLQ	34,7	4	1
14	F	10	M1P2	6	0	AZA	HCLQ	17,4	0	0
15	F	18	M3P4	6	7,5	AZA	HCLQ	14,0	4	0
Média		15		4	3			16,5	3	0
dp		2		3	5			9,5	2	1

Abreviações: M = masculino; F = feminino; P = pelos pubianos; M = mamas; G= genitália; AZA= azatioprina; HCLQ = hidroxicloroquina; CLQ = cloroquina; MTX = metotrexato; MMF = micofenolato mofetil; SLEDAI-2K = *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000*; SLICC/ACR = *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR Damage Index*. * Prontuário do paciente não foi localizado para as análises.

O uso de contraceptivo por barreira masculino (camisinha) foi orientado para todos os pacientes atendidos no ICr-FMUSP. Se houvessem casos particulares, seria indicado para as pacientes do sexo feminino o uso do contraceptivo de emergência Levonorgestrel (pílula do dia seguinte). Assim, durante o estudo, foram orientados métodos contraceptivos para todos os pacientes, de ambos os gêneros, que mantinham relações sexuais.

Os pacientes que se adequaram ao perfil supracitado foram convocados por mais uma vez, quando eram informados sobre todos os detalhes do projeto. Além disso, os pais ou responsáveis legais assinavam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para voluntário participar do projeto.

3.4. Consumo alimentar

No período Pré 1, Pós 1, Pré 2, Pós 2, foram conduzidas avaliações nutricionais por meio de recordatórios alimentares em três dias não consecutivos (dois dias úteis e um dia do final de semana), para que a variação da ingestão, que normalmente ocorre neste período, constasse na avaliação. Para auxílio na quantificação das porções alimentares durante o recordatório foi utilizada uma cartilha com desenhos de utensílios e porções, desenvolvida e validada pela equipe de nutrição do Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicado a Atividade Motora (Polacow et al., 2003a; Polacow et al., 2003b) e, também, um livro contendo fotos de 100 porções alimentares.

Os recordatórios foram aplicados com os voluntários juntamente com os pais e/ou responsáveis, por um nutricionista treinado. Os dados das três avaliações foram tabulados por um único avaliador experiente, com o auxílio do programa Avanutri

versão *online*. Foram analisadas as ingestões de energia (em quilocalorias) e macronutrientes (em gramas e porcentagem do total).

3.5. Suplementação e vendamento

Os suplementos foram providenciados conforme o modelo duplo-cego. A randomização foi estratificada por força muscular e maturação sexual. Apenas um pesquisador do estudo, sem contato com qualquer tipo de avaliação e análise dos dados, se responsabilizou pela alocação dos pacientes no estudo. Em uma das fases os voluntários receberam 0,1 g/kg de peso/dia de Cr monohidrato em pó enquanto na outra receberam a mesma dose em dextrose, entregues em plásticos do tipo *zip lock*, dentro de uma sacola devidamente identificada com o nome do voluntário. Todos os voluntários foram orientados a ingerir o suplemento acompanhado de suco de livre escolha, após o almoço.

Para confirmar a aderência à suplementação, os voluntários preencheram uma tabela com data e horário da suplementação, bem como foram comunicados a devolverem os plásticos *zip lock* após o consumo do suplemento.

Ainda, os pacientes foram inquiridos acerca do suplemento ingerido após o estudo. A porcentagem de acerto foi comparada entre os grupos como forma de assegurar a eficiência do “vendamento” da pesquisa.

3.6. Exames Clínicos

Os dados clínicos específicos da doença, assim como idade de início, tempo de duração e atividade foram obtidos através de revisão de prontuários e entrevista. A avaliação da terapêutica medicamentosa incluiu tempo de utilização, dose atual em

miligramas e dose cumulativa (em gramas) de cada um dos medicamentos empregados para controle da doença: corticosteróides, metotrexato, ciclosporina, gamaglobulina endovenosa e rituximabe. As doses de todos os corticosteróides utilizados (prednisona, prednisolona e metilprednisolona) foram transformadas em gramas de prednisona, através do cálculo de equivalência entre as drogas.

Nos períodos Pré 1, Pós 1, Pré 2 e Pós 2, foram determinados a atividade da doença e qualidade de vida por meio de questionários específicos. A atividade da doença foi determinada pelo SLEDAI-2K (Gladman et al., 2002) e o dano cumulativo causado pela atividade da doença, uso de medicamentos ou co-morbidades pelo *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR Damage Index* (SLICC/ACR) (Gladman et al., 1996).

3.7. Fosforilcreatina intramuscular

As concentrações intramusculares de PCr foram determinadas por ³¹P-ERM, utilizando equipamento de corpo inteiro de imagem, por ressonância magnética de 3 Tesla (Achieva Intera, Philips, The Netherlands) e bobina de superfície de fósforo (³¹P) com diâmetro de 14 cm.

Para seleção do volume muscular, foram adquiridas três imagens nos planos axial, coronal e sagital da perna com a bobina de corpo na frequência de 1H. Para aquisição do espectro, foi utilizada a técnica de voxel único (*single voxel*), com a sequência de pulso *image selected in vivo spectroscopy* (ISIS), tempo de eco (TE) mínimo de 0,62 ms e tempo de repetição (TR) de 4500 ms. O tamanho do voxel foi adaptado ao volume do músculo do paciente e a largura de banda do espectro foi de 3000 Hz, com amostragem de 2048 pontos e 64 repetições. O tempo de aquisição de

cada 31P-ERM foi de, aproximadamente, 9 min. Os dados brutos da espectroscopia foram processados incluindo os seguintes passos: apodização, correção de fase e transformada de Fourier. O sinal da PCr foi quantificado em relação ao sinal total do ATP (soma dos picos α -, β -, γ -ATP).

Ainda, também foram realizadas avaliações, utilizando a 31P-ERM, em crianças e adolescentes saudáveis, que foram pareados com os pacientes com LESJ que participaram do projeto e finalizaram o protocolo.

3.8. Avaliação do estágio puberal, nível de atividade física, capacidade física, antropometria e composição corporal

A avaliação do estágio de maturação sexual foi realizada por meio do estágio puberal de Tanner (Tanner, 1962), idade da menarca (em anos). Como padrão de referência das medidas antropométricas (peso e estatura), foi utilizada a curva de crescimento e desenvolvimento da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2007) e foram calculados os escore de desvio-padrão (Z-escores) para nossa amostra (Ogden et al., 2002).

Para avaliar o nível de atividade física diária antes e durante o estudo, cada voluntário respondeu ao questionário internacional de atividade física (IPAQ – *International Physical Activity Questionnaire* - versão curta) com o auxílio de um pesquisador treinado.

A força dinâmica foi avaliada por teste de uma repetição máxima (1 RM). Os pacientes realizaram aquecimento com oito repetições, com um peso leve (50% de 1 RM). Após dois minutos de intervalo, nova série com três repetições foi realizada, com peso moderado (70% de 1 RM). Após três minutos de intervalo, foram realizadas de

três a cinco tentativas para estimar a carga máxima, com três minutos de descanso entre cada tentativa. Os testes foram realizados nos aparelhos leg press 45° e supino horizontal. Além disso, foi avaliada a força de preensão manual (*handgrip*) através de um dinamômetro de mão. O teste foi realizado com a mão dominante do paciente, o qual se manteve em posição ereta e com o braço estendido ao longo do corpo. O paciente realizou o máximo de força de preensão manual no aparelho por 5 segundos. O maior valor obtido dentre três tentativas, separadas por um minuto de intervalo, foi considerado a força de preensão manual.

Para avaliar a função muscular, foi empregado o teste “*Timed-Stands*” adaptado (Newcomer et al., 1993), no qual é contabilizado, em 30 segundos, o número de vezes que o sujeito consegue levantar e sentar de uma cadeira utilizando apenas os membros inferiores. Já a mobilidade funcional foi avaliada pelo teste “*Timed Up-And-Go*” (Podsiadlo; Richardson, 1991), no qual se avalia o tempo necessário para que o paciente se levante de uma cadeira, caminhe três metros, dê uma volta de 180 graus, e retorne à cadeira. Em cada teste o paciente realiza duas tentativas e o melhor desempenho foi considerado. Além disso, os voluntários passaram por uma sessão de familiarização realizada pelo menos 48 horas antes do teste inicial.

Para a determinação dos limiares ventilatórios e potência aeróbia, os pacientes realizaram um teste ergoespirométrico, em esteira rolante (*Centurion 200, Micromed*), seguindo um protocolo em rampa com aumento a cada minuto na carga de trabalho (velocidade e/ou inclinação) até a exaustão, sendo verificada a percepção subjetiva de esforço, com o auxílio da escala de Borg (Borg, 1987), antes e após o período de suplementação. No dia anterior ao teste, os voluntários receberam por escrito todas as instruções relevantes à execução do teste. Durante o teste, o comportamento cardiovascular foi continuamente avaliado através de eletrocardiógrafo, com as 12

derivações e a FC monitorizada. Por meio de um ergoespirômetro computadorizado (*Metalyzer modelo III b/breath-by-breath*), a ventilação pulmonar (VE) foi medida a cada expiração. Por meio de sensores de oxigênio (O₂) e de dióxido de carbono (CO₂) foram analisadas as frações expiradas de O₂ e CO₂, respectivamente, a cada ciclo respiratório. A partir das análises da VE e das concentrações dos gases expirados, foram calculados o consumo de oxigênio (VO₂) e a produção de dióxido de carbono (VCO₂). O consumo máximo de O₂ (VO₂máx) foi determinado pela média dos últimos 30 segundos do VO₂. Os testes foram considerados máximos quando um dos quatro seguintes critérios foram atingidos: platô do VO₂, razão de trocas respiratórias $\geq 1,0$ e FC > 180bpm e PSE ≥ 17 . Os limiares ventilatórios foram determinados com base nas respostas dos equivalentes ventilatórios de O₂ (VE/VO₂) e CO₂ (VE/VCO₂). O limiar anaeróbio ventilatório (LAV) foi considerado como o ponto em que ocorreu o aumento no VE/VO₂ após um ponto mínimo, sem aumento do VE/VCO₂. O ponto de compensação respiratório (PCR) foi determinado pela intensidade em que ambos os equivalentes ventilatórios apresentam aumento abrupto.

Todos testes físicos foram realizados no LACRE nos períodos Pré 1, Pós1, Pré 2 e Pós 2 por um único avaliador experiente. Todos os testes foram conduzidos sob a supervisão de um médico.

A composição corporal foi avaliada por meio de DXA, através do equipamento *Hologic Discovery*. O índice de massa magra e o de massa gorda foram calculados dividindo-se massa magra (kg) ou massa gorda pela altura, em metros quadrados (m²). A análise do corpo inteiro foi realizada sem considerar a cabeça, uma vez que tem sido descrita na literatura por aumentar a variabilidade em crianças (Pecoraro et al., 2003). Para minimizar possíveis efeitos de confusão no tamanho do esqueleto em medições por DXA, foi calculada a densidade mineral óssea aparente (DMOA) dos pacientes. A

DMOA foi avaliada dividindo a densidade mineral óssea (DMO) em um determinado local (coluna, fêmur total ou corpo inteiro) pela raiz quadrada da área do corpo (AC) correspondente ($DMOA = DMO / \sqrt{AC}$) (Carter et al., 1992; Santiago et al., 2008). Todas as medições foram realizadas pelo mesmo técnico treinado. O erro de precisão para a medida de DMO foi determinado de acordo com as normas estipuladas pela *International Society for Clinical Densitometry protocols* (Baim et al., 2005).

3.9. Exames laboratoriais e marcadores bioquímicos do remodelamento ósseo

Os pacientes compareceram a enfermaria da Reumatologia em jejum noturno de 12 horas. Foram coletados 15 mL de sangue da veia antecubital para as posteriores análises de sódio, potássio, uréia, creatinina, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, creatina fosfoquinase, desidrogenase láctica, aldolase, proteína C-reativa e velocidade de hemossedimentação. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 4°C, 4000 rotações por minuto, durante cinco minutos, e então o plasma foi pipetado e dispensado em *ependorfs*, que foram congelados e armazenados em freezer - 80°C.

Para a coleta urinária, o paciente foi orientado a desprezar a primeira urina do dia e marcar seu horário. A partir desse momento, ele armazenou toda a diurese em um frasco fornecido pela equipe de pesquisadores, durante 24 horas, até o horário da primeira coleta.

A creatinina sérica foi determinada pelo método colorimétrico de Jaffé. O *clearance* de creatinina foi estimado através da equação de Cockcroft et al. (1976). As dosagens de potássio e sódio plasmático foram realizadas em Fotômetro de Chama. As concentrações de uréia, tanto séricas quanto urinárias, foram mensuradas por método

cinético em ultravioleta através da ação da urease, com medida da absorbância em 340 nm. Dosou-se a proteinúria através de método cinético por cloreto de benzetônio e a microalbuminúria foi dosada por meio do método de imunoturbidimetria.

No mesmo dia da realização da densitometria óssea, uma amostra de sangue foi colhida após jejum noturno de 12 horas, centrifugada e armazenada a -80° C no Laboratório de Metabolismo Ósseo (LIM-17 - Disciplina de Reumatologia da FMUSP), para posterior análise das concentrações de telo-peptídeos carboxi-terminais do colágenotipo I (CTX) e pró-peptídeos amino-terminais do pró-colágeno tipo I (P1NP).

As concentrações de P1NP e CTX, marcadores de formação e reabsorção óssea, respectivamente, foram dosadas no soro por método automatizado de eletroquimioluminescência (E411, Roche Diagnostics®, Mannheim, Alemanha). Os coeficientes de variação para CTX e P1NP foram 2,5% e 2,2%, respectivamente.

3.10. Parâmetros de capacidade funcional e qualidade de vida

A avaliação funcional da qualidade de vida relacionada à saúde na doença foi feita pelo *Childhood Health Assessment Questionnaire* (CHAQ), que foi validado para o português por Machado et al. (2001). O questionário pediátrico de qualidade de vida (PedsQL) foi utilizado pelos os pacientes e seus respectivos pais/responsáveis, de acordo com as diferentes faixas etárias dos voluntários: 9 a 12 anos e 13 a 18 anos. A avaliação global do paciente, do familiar e do médico foi determinada pela Escala Visual Analógica (EVA), que pontua a doença com notas entre zero (doença inativa) e 10 (doença muito ativa) (Rider et al., 1997).

3.11. Clearance de ^{51}Cr -EDTA

A administração do ^{51}Cr -EDTA foi realizada em veia periférica, com atividade de 100 μCi , no volume de 1 mL. A coleta de amostras sanguíneas de 10 mL foi feita no braço contralateral à injeção do radiofármaco, após 240 e 360 min. As amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 10 min, para separação do plasma.

Amostras de 3 mL de plasma e da solução padrão, obtida pela diluição da mesma atividade (100 μCi) em 1000 mL de água, foram analisadas em um contador de poço.

A atividade radioativa das amostras, expressa em contagens por mL, permitiu ajustar a curva exponencial que representou o *clearance* plasmático do radiofármaco. A inclinação da curva (*slope*) representou a taxa de *clearance* de EDTA, ou seja, a percentagem de depuração por unidade tempo ($k = 0,693/t_{1/2}$). O volume de distribuição foi obtido dividindo-se a atividade administrada pela concentração plasmática no tempo zero (intercepto da curva plasmática).

A taxa de *clearance* plasmático multiplicada pelo volume de distribuição do radiofármaco forneceu o *clearance* plasmático em mL/min, sobre o qual foi aplicada a correção para superfície 1,73 m² e a correção de Chantler.

3.12. Cálculo do tamanho da amostra e análise estatística

O tamanho da amostra foi determinado com auxílio do programa G-Power[®] (versão 3.1.2 – Universitat Kiel, Alemanha). A análise foi conduzida inserindo-se o erro α (0,05) o poder ($1 - \beta = 0,95$) e o *Effect Size* (0,66), calculado a partir de dados de ganho de força obtidos a partir de um estudo prévio que investigou os efeitos da suplementação de Cr em jovens com distofia suplementados com Cr (Louis et al.,

2003). O modelamento resultou em uma amostra necessária de 10 participantes, que foi aumentada para 18, dando conta de possíveis desistências ao longo do seguimento.

Foi utilizado o Mixed Model (SAS) para análises de medidas repetidas e, quando pertinente, *post-hoc* de Tukey para comparações múltiplas. Os grupos e os períodos foram considerados fatores fixos e os sujeitos, definidos como fatores aleatórios. Fatores como idade, concentrações basais de PCr, força e função foram testados como co-variáveis.

Foram calculados coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis clínicas (atividade da doença, capacidade física, função e força muscular) e metabólicas (PCr intramuscular). Todos os dados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão e intervalo de confiança. O nível de significância adotado para rejeitar a hipótese nula foi de $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Pacientes

De acordo com os registros adquiridos no ICr-FMUSP referentes ao ano de 2010, o número aproximado de crianças e adolescentes diagnosticados com LESJ que frequentavam o ambulatório de reumatologia correspondia a 192 pacientes, dos quais 18 participaram do projeto de pesquisa como mostra a Figura 2. Do total de voluntários que participaram do estudo, três realizaram apenas uma parte dos exames iniciais, desistindo de participar do protocolo por diversos motivos, entre eles, restrição médica devido a uma investigação de osteonecrose articular do joelho, internação e motivos pessoais.

Entretanto, 15 voluntários concluíram todo o protocolo. 174 pacientes não participaram do estudo por não serem contactados (n= 80), por se recusarem a participar (n = 7) ou por não preencherem os critérios de inclusão (dez pacientes possuíam pontuação superior a oito no SLEDAI-2K, 27 pacientes possuíam doses superiores a 20 mg de prednisona por dia, 14 pacientes tinham prática regular de atividade física e 36 pacientes foram excluídos por outros motivos).

Durante o estudo, duas pacientes entraram em atividade da doença (pacientes 4 e 10, durante as condições placebo e Cr, respectivamente), porem as mesmas foram aptas a completar o estudo. A terapia medicamentosa foi alterada para 40 e 20 mg de prednisona para as pacientes 4 e 10, respectivamente e a azatioprina foi aumentada de 100 para 150 mg para paciente 4. Todas as análises foram realizadas com ou sem as duas voluntárias e os resultados foram virtualmente os mesmos obtidos. Desta forma, todos os resultados a seguir são reportados com os 15 pacientes que completaram o protocolo.

Figura 2. Fluxograma do pacientes com LESJ

4.2. Consumo alimentar

Os dados de consumo alimentar são apresentados na Tabela 2. Não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas ($p > 0,05$).

Tabela 2. Consumo alimentar

Variável	Creatina		Placebo	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Proteína (g)	14,0 $\pm$ 3,4	13,3 $\pm$ 2,1	15,6 $\pm$ 3,6	16,0 $\pm$ 4,6
Carboidrato (g)	54,8 $\pm$ 5,3	58,4 $\pm$ 9,6	53,3 $\pm$ 8,2	54,5 $\pm$ 6,9
Lipídeos (g)	32,1 $\pm$ 7,6	28,3 $\pm$ 8,9	31,1 $\pm$ 8,5	29,4 $\pm$ 6,7
Energia total (Kcal)	1913 $\pm$ 505	1855 $\pm$ 543	1908 $\pm$ 628	1973 $\pm$ 712
Creatina total (g)	1,3 $\pm$ 0,7	1,6 $\pm$ 0,8	1,4 $\pm$ 0,9	1,3 $\pm$ 0,9

Todos os dados são expressos em média $\pm$ desvio padrão. Não houve diferença significativa para nenhuma variável no período basal e entre condições.

4.3. Suplementação e vendamento

Seis pacientes (40%) identificaram corretamente o suplemento que haviam consumido. Destes, quatro pacientes (26,66%) identificaram corretamente o suplemento na condição Cr, ao passo que, dois (13,33%) pacientes foram capazes de identificar o suplemento correto na condição placebo ($p > 0,05$ entre as condições). Treze pacientes (86,66%) autor relataram aderência de 100% à suplementação, enquanto as pacientes 11 e 10 auto-relataram 50% e 85% de adesão durante a condição placebo e Cr, respectivamente.

4.4. Exames clínicos

Não houve diferença significativa na pontuação do SLICC/ACR ($p = 1,00$) e do SLEDAI-2K ($p = 0,24$), bem como, na dose de prednisona ($p = 0,91$) dos voluntários ao longo do projeto, nas diferentes condições.

4.5. Fosforilcreatina intramuscular

O conteúdo de PCr intramuscular foi avaliado entre as condições no período basal ($p = 0,93$). Não houve diferença entre as condições Cr e placebo (Cr - Pré: $20,5 \pm 2,6$ / Pós: $20,4 \pm 4,1$ /delta escore = $-0,1 \pm 3,1$ mmol/kg peso úmido/ ES = $-0,04$; placebo - Pré: $19,8 \pm 2,0$ / Pós: $20,2 \pm 3,2$ / delta escore = $0,3 \pm 3,1$ mmol/kg peso úmido/ ES = $0,17$; 95% IC parar delta escore = $-1,9 \pm 2,8$ / $p = 0,70$ para interação entre Cr e placebo). A Figura 3. Ilustra os dados relativos ao conteúdo de PCr muscular.

Ainda, as crianças saudáveis avaliadas ($n = 11$; meninos/meninas = $4/7$; idade = 15 ± 5 anos, IMC = $21,6 \pm 3,8$ kg/m²) obtiveram valores de PCr intramuscular semelhantes aos pacientes com LESJ ($20,5 \pm 2,6$ mmol/kg/ peso úmido; $p = 0,12$).

Figura 3. A) Dados individuais do conteúdo intramuscular de PCr dos pacientes nas diferentes condições e B) Escores delta para conteúdo intramuscular de PCr

4.6. Avaliação do estágio puberal, nível de atividade física, capacidade física, antropometria e composição corporal

A Tabela 3. ilustra o estágio maturacional dos voluntários ao longo do estudo, bem como o nível de atividade física, nas diferentes condições.

A Tabela 4. apresenta os dados referentes à força e função muscular (1 RM de *Leg press*, supino, preensão manual e os testes funcionais “*Timed-Stands*” e o “*Timed-Up-And-Go*”) dos pacientes com LESJ. Não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas ($p > 0,05$). Os testes de 1 RM *Leg press* e *Timed-Stands* tiveram efeito principal de tempo ($p = 0,005$ e $p = 0,002$, respectivamente).

A Tabela 5. apresenta os dados referentes à aptidão aeróbia pacientes com LESJ. Não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas ($p > 0,05$).

Os dados antropométricos e de composição corporal dos voluntários do projeto são apresentadas na Tabela 6. Não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas ($p > 0,05$).

Os dados de massa óssea e marcadores bioquímicos do remodelamento ósseo dos voluntários do projeto são apresentados na Tabela 7. Não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas ($p > 0,05$). Entretanto, houve diferença significativa para o efeito principal de tempo para as variáveis peso, estatura, massa magra, conteúdo mineral ósseo total, DMOA L1-L4, DMOA corpo inteiro ($p < 0,05$ para todas as variáveis).

Tabela 3. Estágio de maturação sexual e nível de atividade física

Paciente	Gênero (M/F)	Estágio de maturação sexual de Tanner				IPAQ			
		Placebo		Creatina		Placebo		Creatina	
		Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
1	M	G3P3	G3P4	G2P2	G2P2	Ba	Ba	Mo	Ba
2	M	G4P5	G4P5	G4P5	G5P5	Al	Ba	Mo	Al
3	F	M3P4	M3P4	M3P4	M3P4	Ba	Ba	Ba	Ba
4	F	M4P4	M4P4	M3P3	M3P3	Al	Al	Mo	Mo
5	F	M5P5	M5P5	M5P5	M5P5	Ba	Ba	Ba	Ba
6	M	G4P4	G4P4	G5P5	G5P5	Ba	Ba	Ba	Ba
7	F	M4P4	M4P4	M4P4	M4P4	Ba	Ba	Ba	Ba
8	M	G4P4	G4P4	G4P4	G4P4	Ba	Ba	Al	Ba
9	F	M4P4	M4P4	M3P4	M4P4	Ba	Ba	Ba	Ba
10	F	M5P5	M5P5	M5P5	M5P5	Al	Al	Ba	Ba
11	F	M4P4	M4P4	M3P4	M4P4	Al	Ba	Mo	Ba
12	F	M3P4	M4P4	M4P4	M4P4	Mo	Ba	Mo	Ba
13	F	M2P2	M2P2	M2P2	M2P2	Ba	Ba	Mo	Al
14	F	M3P3	M3P3	M1P2	M3P3	Mo	Al	Ba	Mo
15	F	M3P4	M3P4	M3P4	M3P4	Mo	Al	Al	Mo

Abreviações: IPAQ = *International Physical Activity Questionnaire*; M = masculino; F = feminino; P = pelos pubianos; M = mamas; G= genitália; Ba = Baixo; Mo = Moderado; Al = Alto.

Tabela 4. Caracterização da força e da função muscular

Variável	Placebo				Creatina				Creatina vs. Placebo		
	Pré	Pós	Delta	ES	Pré	Pós	Delta	ES	Dif. Delta	95% IC	p
1 RM Leg press (kg) £	88 ± 36	94 ± 36	5 ± 14	0,15	92 ± 42	99 ± 42	6 ± 6	0,15	1	-7 a 9	0,83
1 RM Supino (kg)	15 ± 4	15 ± 4	0 ± 1	0,00	15 ± 4	16 ± 4	1 ± 4	0,28	1	-3 a 1	0,61
Preensão manual (kg)	21 ± 8	21 ± 7	0 ± 1	-0,03	21 ± 9	21 ± 9	0 ± 2	0,01	0	-1 a 1	0,82
Timed-Stands (rept) #	16,1 ± 2,6	16,6 ± 2,8	0,5 ± 1,9	0,20	16,5 ± 2,6	17,6 ± 3,3	1,1 ± 1,3	0,41	0,6	-1,8 a 0,6	0,66
Timed-Up-And-Go (s)	6,2 ± 1,8	6,0 ± 1,5	-0,2 ± 0,6	-0,11	5,9 ± 1,1	5,7 ± 1,2	-0,1 ± 0,3	-0,12	0,1	-0,4 a 0,3	0,71

Todos os dados são expressos em média ± desvio padrão, *effect size* (ES); diferença entre os deltas, intervalo de confiança de 95% (IC) dos escores delta e nível de significância entre as condições Cr e placebo. Abreviação: RM = repetição máxima; rept = repetições. Não houve diferença significativa para nenhuma variável no período basal. Os símbolos representam efeitos principais de tempo (£ p = 0,005; # p = 0,02).

Tabela 5. Capacidade aeróbia

Variável	Placebo				Creatina				Creatina vs. Placebo		
	Pré	Pós	Delta	ES	Pré	Pós	Delta	ES	Dif. Delta	95% IC	p
VO₂ no La (mL/min/kg)	16,7 ± 3,3	16,6 ± 4,1	-0,1 ± 1,9	-0,03	16,4 ± 2,9	15,8 ± 3,9	-0,6 ± 3,0	-0,21	-0,5	-1,4 a 2,4	0,67
VO₂ no PCR (mL/min/kg)	26,5 ± 5,5	26,6 ± 6,5	0,1 ± 3,6	0,02	25,8 ± 6,3	27,2 ± 9,0	1,4 ± 4,6	0,22	1,3	-4,4 a 1,8	0,37
VO_{2max} (mL/min/kg)	31,8 ± 6,1	32,5 ± 6,7	0,6 ± 2,8	0,11	32,6 ± 4,7	32,0 ± 6,0	-0,6 ± 3,8	-0,13	-1,2	-1,3 a 3,7	0,41
Tempo no La (s)	371 ± 96	369 ± 113	-2 ± 69	-0,01	364 ± 111	354 ± 113	-10 ± 70	-0,09	-8	-53 a 51	0,88
Tempo no PCR (s)	611 ± 122	626 ± 117	15 ± 94	0,12	613 ± 130	611 ± 123	-2 ± 59	-0,02	-17	-42 a 76	0,56
Tempo de teste (s)	754 ± 137	771 ± 127	17 ± 48	0,13	784 ± 116	765 ± 120	-19 ± 63	-0,17	-36	-5 a 78	0,09

Todos os dados são expressos em média ± desvio padrão, *effect size* (ES); diferença entre os deltas, intervalo de confiança de 95% (IC) dos escores delta e nível de significância entre as condições Cr e placebo (p). Abreviações: La = limiar anaeróbio; PCR = ponto de compensação respiratória; VO₂ = consumo de oxigênio; VO_{2max} = consumo máximo de oxigênio. Não houve diferença significativa para nenhuma variável no período basal.

Tabela 6. Dados antropométricos e composição corporal

Variável	Placebo				Creatina				Creatina vs. Placebo		
	Pré	Pós	Delta	ES	Pré	Pós	Delta	ES	Dif. Delta	95% IC	p
Peso (kg) £	52,9 ± 14,9	54,1 ± 15,7	1,2 ± 2,3	0,08	53,4 ± 14,7	54,2 ± 14,7	0,8 ± 1,8	0,05	-0,4	-1,1 a 2,0	0,57
Estatura (cm) #	154,6 ± 13,2	155,7 ± 12,7	1,1 ± 1,9	0,08	155,0 ± 13,3	155,6 ± 12,7	0,6 ± 1,1	0,05	-0,5	-0,6 a 1,7	0,34
Massa magra (kg) §	34,6 ± 9,3	35,4 ± 9,3	0,8 ± 1,3	0,09	35,1 ± 9,1	35,7 ± 9,3	0,6 ± 1,1	0,07	-0,2	-0,7 a 1,1	0,61
Massa gorda (kg)	16,6 ± 7,2	17,2 ± 7,6	0,5 ± 1,5	0,07	16,6 ± 6,4	16,9 ± 6,7	0,4 ± 13,2	0,06	-0,1	-0,9 a 1,2	0,75
% gordura corporal	31,0 ± 7,2	31,0 ± 7,2	0,0 ± 1,8	0,00	30,7 ± 6,0	30,9 ± 6,7	0,2 ± 2,0	0,04	0,2	-1,6 a 1,2	0,73

Todos os dados são expressos em média ± desvio padrão, *effect size* (ES); diferença entre os deltas, intervalo de confiança de 95% (IC) dos escores delta e nível de significância entre as condições Cr e placebo (p). Não houve diferença significativa para nenhuma variável no período basal. Os símbolos representam efeitos principais de tempo (£ p = 0,0145; # p = 0,0043; § p = 0,0031).

Tabela 7. Massa óssea e marcadores bioquímicos do remodelamento ósseo

Variável	Placebo				Creatina				Creatina vs. Placebo		
	Pré	Pós	Delta	ES	Pré	Pós	Delta	ES	Dif. Delta	95% IC	p
CMO Total (g) £	1520 ± 367	1534 ± 370	13 ± 33	0,04	1518 ± 399	1540 ± 374	22 ± 46	0,06	9,00	-39 a 21	0,55
DMOA LI-L4 (g/cm²) #	0,77 ± 0,10	0,79 ± 0,09	0,02 ± 0,02	0,20	0,78 ± 0,08	0,80 ± 0,07	0,02 ± 0,02	0,25	0,00	-0,01 a 0,01	0,15
Z-escore DMOA LI-L4 +	-1,65 ± 1,06	-1,51 ± 0,96	0,14 ± 0,22	0,13	-1,53 ± 0,92	-1,45 ± 0,79	0,07 ± 0,21	0,09	-0,07	-0,09 a 0,23	0,40
DMOA FT (g/cm³)	0,80 ± 0,14	0,79 ± 0,12	-0,01 ± 0,03	-0,07	0,81 ± 0,13	0,80 ± 0,14	0,00 ± 0,04	-0,08	0,01	-0,04 a 0,02	0,89
Z-escore DMOA FT	-1,31 ± 1,07	-1,37 ± 1,03	-0,06 ± 0,20	-0,06	-1,27 ± 1,08	-1,26 ± 1,07	0,01 ± 0,10	0,01	0,07	-0,19 a 0,05	0,25
DMOA CI (g/cm²) ¥	0,90 ± 0,08	0,91 ± 0,08	0,01 ± 0,01	0,13	0,90 ± 0,08	0,91 ± 0,08	0,01 ± 0,01	0,13	0,00	-0,01 a 0,01	0,26
Z-escore DMOA CI	-1,81 ± 0,89	-1,86 ± 0,72	-0,05 ± 0,33	-0,06	-1,88 ± 0,74	-1,75 ± 0,68	0,08 ± 0,21	0,18	0,13	-0,34 a 0,08	0,22
CTX (ng/mL)	0,94 ± 0,58	1,06 ± 0,73	0,12 ± 0,25	0,21	1,10 ± 0,62	1,06 ± 0,72	-0,04 ± 0,40	-0,06	-0,16	-0,09 a 0,41	0,20
P1NP (ng/mL) §	389,5 ± 387,1	366,8 ± 406,0	-22,7 ± 97,0	-0,06	429,0 ± 410,2	326,3 ± 330,3	-102,6 ± 161,9	-0,25	-79,9	-19,9 a 179,8	0,11

Todos os dados são expressos em média ± desvio padrão, *effect size* (ES); diferença entre os deltas, intervalo de confiança de 95% (IC) dos escores delta e nível de significância entre as condições Cr e placebo (p). Abreviações: CMO = Conteúdo mineral ósseo; DMOA = densidade mineral óssea aparente; FT= fêmur total; CI = corpo inteiro; CTX = telo-peptídeos carboxi-terminais do colágeno tipo I; P1NP = pró-peptídeos amino-terminais do pró-colágeno tipo I. Não houve diferença significativa para nenhuma variável no período basal. Os símbolos representam efeitos principais de tempo (£ p = 0,02; # p <.0001; + p = 0,01; ¥ p = 0,02; § p = 0,01).

4.7. Parâmetros de capacidade funcional e qualidade de vida

Não houve diferença significativa entre as condições para os resultados dos questionários de qualidade de vida, capacidade funcional e da EVA ($p > 0,05$), como mostra a Tabela 8.

4.8. Efeitos adversos e avaliações de função renal

Nenhum efeito adverso foi reportado pelos pacientes durante todo o seguimento. A Tabela 9. apresenta os dados laboratoriais, plasmáticos e urinários, dos pacientes com LESJ. Não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas ($p > 0,05$).

O *clearance* de $^{51}\text{Cr-EDTA}$, bem como, os parâmetros séricos e urinários de função renal não sofreram alterações após a intervenção ($p > 0,05$), como mostram a Figura 4 e a Tabela 10.

Figura 4. Dados individuais de depuração de $^{51}\text{Cr-EDTA}$ nas duas condições experimentais

4.9. Análise *post-hoc*

Para explorar, ainda mais, a possível eficácia da suplementação de Cr na função muscular, as alterações nos parâmetros de função muscular foram comparadas entre o sub-grupo composto por aqueles pacientes que aumentaram conteúdo de PCr muscular após a intervenção ($n = 7$; melhora média: 2,5; intervalo: +0,4 a 4,8 mmol/kg peso úmido) e aqueles que não aumentaram ($n = 8$; redução média: -2,4; intervalo: -6,3 a -0,7 mmol/kg peso úmido). Embora a PCr muscular tenha sido significativamente diferente entre os sub-grupos ($p = 0,01$), nenhum dos parâmetros de função muscular foi significativamente diferente entre eles ($p > 0,05$). Além disso, as mudanças no conteúdo de PCr no músculo não foram significativamente associadas com as alterações nos parâmetros de função muscular após a suplementação de Cr ($p > 0,05$, $r = -0,01$ para 0,21).

Tabela 8. Parâmetros de qualidade de vida e capacidade funcional

Variável	Placebo				Creatina				Creatina vs. Placebo		
	Pré	Pós	Delta	ES	Pré	Pós	Delta	ES	Dif. Delta	95% IC	p
PedsQL Paciente (0-100)	66,38 ± 14,10	74,71 ± 19,06	8,33 ± 10,72	0,59	69,49 ± 19,58	77,68 ± 15,92	8,19 ± 16,13	0,42	-0,14	-10,10 a 10,38	0,57
PedsQL responsável (0-100)	68,91 ± 19,31	71,45 ± 22,06	2,54 ± 11,08	0,13	66,67 ± 24,83	71,23 ± 22,43	10,94 ± 24,52	0,18	8,4	-22,63 a 5,83	0,43
CHAQ (0-3)	0,35 ± 0,61	0,34 ± 0,60	-0,01 ± 0,22	-0,02	0,50 ± 0,61	0,40 ± 0,64	-0,10 ± 0,30	-0,16	-0,09	-0,11 a 0,29	0,76
EVA Médico (0-10)	0,92 ± 0,90	0,83 ± 1,53	-0,08 ± 1,56	-0,10	0,50 ± 0,67	0,75 ± 0,75	0,25 ± 0,62	0,37	0,33	-1,22 a 0,56	0,10
EVA Responsável (0-10)	1,33 ± 1,29	1,33 ± 1,29	0,00 ± 1,31	0,00	1,13 ± 1,73	1,00 ± 1,73	-0,13 ± 0,74	-0,08	-0,13	-0,67 a 0,93	0,85
EVA Paciente (0-10)	1,33 ± 1,40	1,40 ± 1,68	0,07 ± 0,80	0,05	1,00 ± 1,20	1,20 ± 1,15	0,20 ± 1,21	0,17	0,13	-0,90 a 0,64	0,96

Todos os dados são expressos em média ± desvio padrão, *effect size* (ES); diferença entre os deltas, intervalo de confiança de 95% (IC) dos escores delta e nível de significância entre as condições Cr e placebo (p). Abreviações: PedsQL= questionário pediátrico de qualidade de vida; CHAQ = *Childhood Health Assessment Questionnaire*; EVA = Escala visual analógica. Não houve diferença significativa para nenhuma variável no período basal.

Tabela 9. Exames laboratoriais

Variável	Placebo				Creatina				Creatina vs. Placebo		
	Pré	Pós	Delta	ES	Pré	Pós	Delta	ES	Dif. Delta	95% IC	p
CPK (U/L)	109 ± 75	410 ± 928	301 ± 912	4,04	116 ± 51	119 ± 52	3 ± 41	0,06	-298	-184 a 781	0,30
DHL (U/L)	372 ± 143	415 ± 171	44 ± 129	0,31	352 ± 111	339 ± 110	-12 ± 153	-0,11	-56	-50 a 162	0,35
Aldolase (U/L)	3,8 ± 1,3	6,6 ± 8,8	2,8 ± 8,9	2,15	3,8 ± 1,1	3,7 ± 0,6	-0,1 ± 1,0	-0,09	-2,9	-1,8 a 7,6	0,25
pcr (mg/L)	5,7 ± 11,3	3,3 ± 5,0	-2,4 ± 6,6	-0,21	2,6 ± 4,8	3,5 ± 5,7	0,9 ± 2,0	0,19	3,3	-6,9 a 0,3	0,08
TGO/AST (U/L)	21,9 ± 6,9	31,5 ± 20,5	8,8 ± 16,9	1,39	22,3 ± 7,2	22,0 ± 5,4	-1,9 ± 5,08	-0,04	-10,7	1,4 a 20,0	0,06
TGP/ALT (U/L)	14,8 ± 8,3	20,3 ± 12,7	5,5 ± 9,1	0,66	14,2 ± 5,9	15,5 ± 5,8	-0,3 ± 4,0	0,22	-5,8	0,6 a 11,1	0,08
VHS (mm/Hg)	13,4 ± 9,7	11,3 ± 9,5	-0,7 ± 3,2	-0,22	9,0 ± 4,6	9,6 ± 6,1	2,7 ± 7,7	0,13	3,45	-7,9 a 1,0	0,44

Todos os dados são expressos em média ± desvio padrão, *effect size* (ES); diferença entre os deltas, intervalo de confiança de 95% (IC) dos escores delta e nível de significância entre as condições Cr e placebo (p). Abreviações: CPK= creatina fosfoquinase; DHL= desidrogenase láctica; pcr= proteína C-reativa; TGO/AST = aspartato aminotransferase; TGP/ALT = alanina aminotransferase; VHS = velocidade de hemossedimentação. Não houve diferença significativa para nenhuma variável no período basal.

Valores de referência: CPK: mulheres : 26 a 192 U/L, homens: 39 a 308 U/L; DHL: 240 a 480 U/L; Aldolase: inferior a 7,6 U/L; pcr: inferior a 5,0 mg/L; TGO/AST: mulheres: inferior a 31 U/L, homens: inferior a 41 U/L; TGP/ALT: mulheres: inferior a 31 U/L, homens: inferior a 37 U/L; VHS: 3,1 a 10,7 mm/Hg.

Tabela 10. Parâmetros de função renal

Variável	Placebo				Creatina				Creatina vs. Placebo		
	Pré	Pós	Delta	ES	Pré	Pós	Delta	ES	Dif. Delta	95% IC	p
Potássio sérico (mEq/L)	4,25 ± 0,34	4,35 ± 0,37	0,10 ± 0,33	0,29	4,28 ± 0,33	4,18 ± 0,38	-0,10 ± 0,28	-0,30	-0,2	-0,03 a 0,43	0,13
Sódio sérico (mEq/L)	141,0 ± 2,3	140,5 ± 2,5	-0,5 ± 2,8	-0,20	140,5 ± 2,7	140,5 ± 3,4	0 ± 3,2	0,03	0,5	-2,8 a 1,7	0,69
Ureia urinária (mg/24h)	15,2 ± 6,7	13,5 ± 5,2	-1,7 ± 5,6	-0,25	12,5 ± 5,5	13,2 ± 6,5	0,7 ± 3,9	0,12	2,4	-6,0 a 1,3	0,80
Ureia sérica (mg/dL)	21,8 ± 5,8	20,5 ± 5,1	-1,3 ± 5,7	-0,22	22,9 ± 6,4	21,1 ± 6,7	-1,8 ± 6,4	-0,28	-0,5	-4,0 a 5,0	0,67
Creatinina urinária (g/24h)	0,96 ± 0,36	1,02 ± 0,52	0,06 ± 0,36	0,17	0,83 ± 0,40	0,96 ± 0,48	0,13 ± 0,19	3,25	0,07	-0,29 a 0,15	0,39
Creatinina sérica (mg/dL)	0,63 ± 0,14	0,63 ± 0,16	0,01 ± 0,07	0,00	0,65 ± 0,18	0,69 ± 0,20	0,04 ± 0,12	0,22	0,03	-0,10 a 0,04	0,37
Proteinúria (g/24h)	0,19 ± 0,20	0,17 ± 0,11	-0,02 ± 0,24	-0,10	0,13 ± 0,06	0,14 ± 0,08	0,01 ± 0,08	0,17	0,03	-0,16 a 0,10	0,63
Albuminúria (mg/L)	8,2 ± 5,6	9,7 ± 7,3	-0,4 ± 8,6	0,27	10,4 ± 10,2	5,5 ± 3,2	-2,8 ± 6,8	-0,48	-2,4	-3,4 a 8,2	0,23
⁵¹ Cr-EDTA (mL/min/1,73m ²)	106 ± 21	108 ± 17	3 ± 22	0,11	112 ± 14	120 ± 19	8 ± 16	0,59	5	-20 a 9	0,43

Todos os dados são expressos em média ± desvio padrão, *effect size* (ES); diferença entre os deltas, intervalo de confiança de 95% (IC) dos escores delta e nível de significância entre as condições Cr e placebo (p). Não houve diferença significativa para nenhuma variável no período basal.

Valores de referência: Potássio sérico: 3,5 a 5,0 mEq/L; Sódio sérico: 135 a 145 mEq/L; Ureia urinária: 10 a 35 g/vol 24h; Ureia sérica: 10 a 50 mg/dL; Creatinina urinária: 1,04 a 2,35 g/vol 24h; Creatinina sérica: mulheres: 0,50 a 0,90 mg/dL, homens: 0,70 a 1,20 mg/dL; ; Proteinúria: inferior a 0,15 g/vol 24h; ⁵¹Cr-EDTA: 13-15 anos: 114 +/- 24 mL/min/1,73m², 16-19 anos: 110 +/- 25 mL/min/1,73m².

5. DISCUSSÃO

Este presente estudo teve como objetivo verificar a eficácia e segurança da suplementação de Cr em pacientes com atividade leve de LESJ. A intervenção com a suplementação Cr não resultou em nenhuma melhora significativa de força muscular, capacidade funcional, densidade mineral óssea, composição corporal e parâmetros de qualidade de vida relacionados à saúde dos voluntários. Apesar do protocolo de suplementação de Cr por 12 semanas a 0,1 g/kg/d ser bem tolerado e não provocar nenhum efeito adverso nos pacientes, o mesmo não foi capaz de aumentar o conteúdo intramuscular de PCr, o que provavelmente explica a ausência de resultados positivos.

Tem sido demonstrado que a suplementação de Cr tem emergido como uma potencial terapia adjuvante no tratamento de uma ampla gama de doenças/condições caracterizadas por fraqueza muscular e diminuição de massa muscular, tais como miopatias (Tarnopolsky; Martin, 1999), diabetes *mellitus* tipo-2 (Gualano et al., 2011), osteoartrite (Neves et al., 2011), fibromialgia (Alves et al., 2013) e câncer (Bourgeois et al., 2008.). Entretanto, não se podem extrapolar os dados desses estudos, que avaliaram a população adulta, para a população pediátrica. A este respeito, há dados de uma meta-análise compreendendo seis estudos que indicam uma melhora da função muscular (8,47%) em pacientes com distrofias musculares (Kley et al., 2008). Além disso, a partir de observações anteriores na literatura, poder-se-ia esperar mudanças benéficas na composição corporal após a suplementação de Cr (Tarnopolsky et al., 2004). Bourgeois et al. (2008) demonstraram que, em 16 semanas com suplementação de Cr (0,1 g/kg/d), como parte de um protocolo de manutenção da quimioterapia, houve atenuação do acúmulo de gordura corporal em crianças com leucemia linfoblástica aguda tratadas

com corticosteroides. Além disso, Tarnopolsky et al. (2004) relataram maiores ganhos de massa magra em pacientes com Duchenne que foram suplementados com Cr (0,1 g/kg/por 16 semanas) em comparação ao grupo placebo. Como os pacientes com LESJ podem apresentar perda de força e função muscular, acúmulo excessivo de gordura corporal e perda de massa magra (Ravelli et al., 2003, 2004; Lilleby et al., 2007), foi especulado que a suplementação de Cr poderia atenuar estes resultados adversos.

No entanto, em contraste com esta hipótese, os resultados deste estudo mostraram que não houve alteração na força e função muscular, bem como, na composição corporal dos voluntários do projeto, sugerindo que a suplementação de Cr é ineficaz para pacientes com LESJ. A explicação mais plausível para a "ausência" de resultados neste ensaio refere-se à incapacidade da Cr aumentar suficientemente o conteúdo intramuscular de PCr. Na verdade, esse argumento tem sido postulado como a principal razão para o insucesso de ensaios clínicos envolvendo a suplementação de Cr (Tarnopolsky et al., 2004). Tem sido consistentemente demonstrado que um aumento intramuscular de Cr/PCr induzidos pela ingestão dietética de Cr melhora a produção e transporte de energia, através do sistema creatina quinase, levando a melhorias na função muscular em indivíduos saudáveis e doentes (Wallimann et al., 2011; Gualano et al. 2012). Além disso, o aumento intramuscular de Cr/PCr tem sido associado com a estimulação na síntese de proteína, o que poderia resultar em aumento de massa magra (Deldicque et al., 2005, 2007).

Interessantemente, há algumas evidências que mostram que a suplementação com Cr em doses mais baixas do que as utilizadas no estudo (isto é, 0,1 g/kg/d) são suficientes para aumentar o conteúdo intramuscular de PCr em indivíduos jovens e saudáveis (Hultman et al., 1996), em pacientes com diabetes *mellitus* tipo-2 (Gualano et al., 2011) e idosos (Rawson et al., 2002). Entretanto, protocolos com dosagem de Cr

semelhante (0,15 g/kg/d) a utilizada foram capazes de aumentar o teor de PCr intramuscular em atletas jovens, mas não em pacientes com distrofia muscular de Becker (Zangue et al., 2002). Ainda, Tarnopolsky et al. (2004) especularam que a atividade física pode ser um fator que contribui para otimizar a captação de Cr muscular. Assumindo que esta hipótese seja verdadeira, pode-se sugerir que a inatividade física dos pacientes com LESJ pode explicar parcialmente a resposta à suplementação de Cr encontrada no presente estudo. No entanto, pacientes com fibromialgia, que normalmente são hipoativos, parecem ser altamente responsivos a suplementação de Cr, no que tange ao aumento do conteúdo intramuscular de PCr (Alves et al., 2013), sugerindo que a atividade física tem um papel pequeno na captação de Cr após a suplementação de Cr.

Ainda, tem sido postulado que uma possível diferença intrínseca no músculo esquelético, poderia ser responsável pela aparente incapacidade/atenuação dos pacientes em aumentar o conteúdo de Cr intramuscular em resposta à suplementação de Cr. A este respeito, demonstrou-se que o músculo distrófico pode apresentar uma menor expressão da proteína transportadora de Cr (Tarnopolsky; Martin, 1999) ou pior absorção de Cr (Fitch et al., 1969), o que provavelmente contribui para a redução da capacidade em responder a suplementação de Cr em distrofinopatias. O fato dos pacientes não responderem à suplementação de Cr no presente estudo sugere que algumas anormalidades do metabolismo da Cr também podem ocorrer em LESJ, embora não haja nenhuma evidência direta para esta suposição. De fato, neste estudo, o conteúdo intramuscular de PCr foi comparado entre indivíduos saudáveis e pacientes com LESJ e não foi observada diferença significativa entre os valores, sugerindo um metabolismo normal de Cr nos pacientes com LESJ. No entanto, a presente amostra da pesquisa foi composta por pacientes com atividade leve da doença, portanto, não se pode descartar a

possibilidade de que pacientes com comprometimento muscular mais grave podem apresentar um declínio no conteúdo intramuscular de PCr. Finalmente, é importante ressaltar que, a nosso conhecimento, não há nenhum estudo para mostrar a resposta de diferentes doses de suplementação de Cr em crianças saudáveis. Na ausência desses dados discutidos, permanece incerto se as doses utilizadas em indivíduos adultos ou se doses superiores são necessárias para obter aumentos significativos sobre o conteúdo intramuscular de Cr/PCr em populações pediátricas.

Em divergência com outras observações (Louis et al., 2003), a suplementação de Cr não conseguiu aumentar a massa óssea ou melhorar o perfil de marcadores ósseos neste estudo. Louis et al. (2003) mostram que a suplementação de Cr foi capaz de aumentar a densidade mineral óssea em 3% e reduzir o marcador da reabsorção óssea N-telopeptídeo de colagénio tipo I (NTx) urinário em 30% em pacientes com distrofia de Duchenne que faziam tratamento com corticóide. Tais resultados contraditórios são difíceis de serem avaliados, considerando as divergências das amostras estudadas. Considerando a redução da massa óssea observada em LESJ (Alsufyani et al., 2005) estudos com maior tempo de seguimento continuam sendo necessários.

Apesar da ausência de eficácia da suplementação de Cr no presente estudo, a intervenção foi bem tolerada pelos voluntários e não acarretou em uma deterioração renal ou em qualquer outro evento adverso. Em contraste com alguns estudos de caso que sugerem que a suplementação de Cr pode ser responsável por uma diminuição da função renal, um número crescente de evidências, em diversas faixas etárias, em uma ampla variedade de populações, têm consistentemente refutado estas alegações (Gualano et al., 2008, 2009, 2011; Lugaresi et al., 2013). O presente estudo contribui para a literatura fornecendo provas consistentes de que a suplementação de Cr não afeta a taxa de filtração glomerular (avaliada pela técnica padrão-ouro que utiliza o ^{51}Cr -

EDTA) em pacientes com LESJ. Entretanto, antes de extrapolar estas conclusões, outros estudos devem ser realizados em populações pediátricas saudáveis.

Claramente, este estudo não é isento de limitações. Primeiro, a amostra foi composta por pacientes com características únicas (atividade leve da doença, idade entre 10 e 18 anos, sedentários, com dose estável de terapia medicamentosa). Dado que o LESJ é uma doença heterogênea, com um largo espectro de sintomas, estes resultados não podem ser extrapolados para todos os pacientes com LESJ. Em segundo lugar, é sabido que o efeito da suplementação Cr é mais pronunciado concomitante a um programa de treinamento de força. Portanto, estudos adicionais devem testar o possível efeito sinérgico da suplementação de Cr e exercício físico como uma intervenção potencial capaz de combater a disfunção muscular no LESJ. Em terceiro lugar, não foi objetivo do presente estudo analisar um possível efeito de dose-resposta da suplementação de Cr em pacientes com LESJ. Estudos com indivíduos jovens e idosos demonstraram que a suplementação de Cr não induz *downregulation* do transportador de Cr (Tarnopolsky et al., 2003), sugerindo que existe uma potencialização da resposta utilizando doses mais elevadas de Cr em pacientes com LESJ. No entanto, em um ensaio clínico, a suplementação de Cr em doses mais altas agravou os principais sintomas clínicos de intolerância ao exercício em pacientes com a doença de McArdle (Vorgerd et al., 2002). Com base nos dados da literatura, Vorgerd et al. (2002) sugeriram que a dose de Cr eficaz, e sem os efeitos adversos, situa-se entre 0,06 e 0,15 g/kg/d em pacientes com a doença de McArdle, valor este que está dentro do protocolo utilizado no presente estudo. Entretanto, a investigação da dose ideal da suplementação de Cr em pacientes LESJ continua sendo necessária.

Como conclusão, um protocolo de 12 semanas de suplementação de Cr monohidrato a 0,1 g/kg/d foi bem tolerado e livre de efeitos adversos, mas não afetou o

conteúdo de PCr intramuscular, a função muscular, a composição corporal ou os parâmetros relacionados à qualidade de vida nos pacientes com atividade leve de LESJ.

6. REFERÊNCIAS

Alexanderson H, Lundberg IE. The role of exercise in the rehabilitation of idiopathic inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol*. 2005;17:164-71.

Alexaderson H, Dastmalchi M, Esbjörnsson-Liljedahl M, Opava CH, Lundberg IE. Benefits of intensive resistance training in patients with chronic polymyositis or dermatomyositis. *Arthritis Rheum*. 2007;57(4):768-77.

Alsufyani KA, Ortiz-Alvarez O, Cabral DA, Tucker LB, Petty RE, Nadel H, Malleson PN. Bone mineral density in children and adolescents with systemic lupus erythematosus, juvenile dermatomyositis, and systemic vasculitis: relationship to disease duration, cumulative corticosteroid dose, calcium intake, and exercise. *J Rheumatol*. 2005;32:729-33.

Altman DG. Better reporting of randomised controlled trials: the CONSORT statement. *BMJ*. 1996;313(7057):570-1.

Alves CR, Santiago BM, Lima FR, Otaduy MC, Calich AL, Tritto AC, de Sa Pinto AL, Roschel H, Leite CC, Benatti FB, Bonfá E, Gualano B. Creatine supplementation in fibromyalgia: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Care Res*. 2013;65(9):1449-59.

Baim S, Wilson CR, Lewiecki EM, Luckey MM, Downs RW, Jr., Lentle BC. Precision assessment and radiation safety for dual-energy X-ray absorptiometry: position paper of the International Society for Clinical Densitometry. *J Clin Densitom*. 2005;8:371-78.

Borg G, Hassmen P, Lagerström M. Perceived exertion related to heart rate and blood lactate during arm and leg exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1987;56(6):679-85.

Bourgeois JM, Nagel K, Pearce E, Wright M, Barr RD, Tarnopolsky MA. Creatine monohydrate attenuates body fat accumulation in children with acute lymphoblastic leukemia during maintenance chemotherapy. *Pediatr Blood Cancer*. 2008;51:183-87.

Bruce RA. Exercise testing of patients with coronary heart disease. Principles and normal standards for evaluation. *Ann Clin Res*. 1971;3(6):323-32.

Carter DR, Bouxsein ML, Marcus R. New approaches for interpreting projected bone densitometry data. *J Bone Miner Res*. 1992;7:137-45.

Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. Second Edition. New York: Lawrence Erlbaum Associates; 1988.

Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976;16:31-41.

Deldicque L, Louis M, Theisen D, Nielens H, Dehoux M, Thissen JP, Rennie MJ, Francaux M: Increased IGF mRNA in human skeletal muscle after creatine supplementation. *Med Sci Sports Exerc*. 2005;37:731-36.

Deldicque L, Theisen D, Bertrand L, Hespel P, Hue L, Francaux M. Creatine enhances differentiation of myogenic C2C12 cells by activating both p38 and Akt/PKB pathways. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007;293:1263-71.

Deldicque L, Atherton P, Patel R, Theisen D, Nielens H, Rennie MJ, Francaux M. Effects of resistance exercise with and without creatine supplementation on gene expression and cell signaling in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2008;104(2):371-8.

Doria A, Arienti S, Rampudda M, Canova M, Tonon M, Sarzi-Puttini P. Preventive strategies in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev*. 2008;7:192-97.

Ferreira LG, De Toledo Bergamaschi C, Lazaretti-Castro M, Heilberg IP. Effects of creatine supplementation on body composition and renal function in rats. *Med Sci Sports Exerc*. 2005;37(9):1525-9.

Fitch CD, Moody LG. Creatine metabolism in skeletal muscle. V. An intracellular abnormality of creatine trapping in dystrophic muscle. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1969;132:219-22.

Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang M, Urowitz M, Bacon P, Bombardieri S, Hanly J, Hay E, Isenberg D, Jones J, Kalunian K, Maddison P, Nived O, Petri M, Richter M, Sanchez-Guerrero J, Snaith M, Sturfelt G, Symmons D, Zoma A. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1996;39:363-9.

Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol*. 2002;29:288-91.

Gualano B, Ugrinowitsch C, Seguro AC, Lancha Jr AH. A suplementação de creatina prejudica a função renal? *Rev Bras Med Esporte*. 2008a;14:68-73

Gualano B, Ugrinowitsch C, Novaes RB, Artioli GG, Shimizu MH, Seguro AC, Harris RC, Lancha AH Jr. Effects of creatine supplementation on renal function: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Eur J Appl Physiol*. 2008b;103(1):33-40.

Gualano B, Silva HAR, Rogeri PS, Leme MD, Benatti FB. Suplementação de Creatina. In: Lancha Jr AH, Campos-Ferraz PL, Rogeri PS. *Suplementação nutricional no esporte*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009. p. 67-86.

Gualano B, Artioli GG, Poortmans JR, Lancha Junior AH. Exploring the therapeutic role of creatine supplementation. *Amino Acids*. 2010a;38(1):31-44.

Gualano B, Sá Pinto AL, Perondi B, Leite Prado DM, Omori C, Almeida RT, Sallum AM, Silva CA. Evidence for prescribing exercise as treatment in pediatric rheumatic diseases. *Autoimmun Rev*. 2010b;9(8):569-73.

Gualano B, Coelho DF, Seguro AC, Sapienza MT, Lancha Junior AH. Effect of short-term, high-dose creatine supplementation on measured GFR in a young man with a single kidney. *Am J Kidney Dis*. 2010c;55(3):e7-9.

Gualano B, de Salles Painnelli V, Roschel H, Artioli GG, Junior MN, Lucia de Sa Pinto A, Rossi da Silva ME, Cunha MR, Otaduy MC, da Costa Leite C, Ferreira JC, Pereira RM, Brum PC, Bonfá E, Lancha AH Jr. Creatine in Type 2 Diabetes: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Med Sci Sports Exerc*. 2011;43(5):770-8.

Gualano B, Roschel H, Lancha-Jr AH, Brightbill CE, Rawson ES. In sickness and in health: the widespread application of creatine supplementation. *Amino Acids*. 2012;43:519-29.

Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997;40:1725.

Hoffman JR, Stout JR, Falvo MJ, Kang J, Ratamess NA. Effect of low-dose, short-duration creatine supplementation on anaerobic exercise performance. *J Strength Cond Res*. 2005;19(2):260-64.

Houghton KM, Tucker LB, Potts JE, McKenzie DC. Fitness, fatigue, disease activity, and quality of life in pediatric lupus. *Arthritis Rheum*. 2008;59:537-45.

Hultman E, Soderlund K, Timmons JA, Cederblad G, Greenhaff PL. Muscle creatine loading in men. *J Appl Physiol* 1996;81:232-37.

Klasser GD, Balasubramaniam R, Epstein J. Topical review – connective tissue diseases: orofacial manifestations including pain. *J Orofac Pain*. 2007;21:171-84.

Klein-Gitelman M, Reiff A, Silverman ED. Systemic lupus erythematosus in childhood. *Rheum Dis Clin N Am*. 2002;28:561-77.

Kley RA, Tarnopolsky MA, Vorgerd M. Creatine treatment in muscle disorders: a meta-analysis of randomised controlled trials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79:366-67.

Levy DM e Kamphuis S. Systemic lupus erythematosus in children and adolescents. *Pediatr Clin North Am*. 2012;59(2):345–64.

Lilleby V, Haugen M, Morkrid L, Frey Frosli K, Holven KB, Forre O. Body composition, lipid and lipoprotein levels in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol*. 2007;36:40-47.

Louis M, Lebacqz J, Poortmans JR, Belpaire-Dethiou MC, Devogelaer JP, Van Hecke P, Goubel F, Francaux M. Beneficial effects of creatine supplementation in dystrophic patients. *Muscle Nerve* 2003;27:604-10.

Lovell DJ, Lindslev CB, Rennebohm RM, Ballinger SH, Bowyer SL, Giannini, Hicks JE, Levinson JE, Mier R, Pachman LM, Passo MH, Perez MD, Reed AM, Schikler KN, Smith M, Zemel LS, Rider LG. Development of validated disease activity and damage indices for the juvenile idiopathic inflammatory myopathies. II. The Childhood Myositis Assessment Scale (CMAS): a quantitative tool for the evaluation of muscle function. The Juvenile Dermatomyositis Disease Activity Collaborative Study Group. *Arthritis Rheum*. 1999;42:2213-9.

Lugaresi R, Leme M, de Salles Painelli V, Murai IH, Roschel H, Sapienza MT, Lancha Junior AH, Gualano B. Does long-term creatine supplementation impair kidney function in resistance-trained individuals consuming a high-protein diet? *J Int Soc Sports Nutr*. 2013;10:26.

Machado CS, Ruperto N, Silva CH, Ferriani VP, Roscoe I, Campos LM, Oliveira SK, Kiss MH, Bica BE, Sztajnbock F, Len CA, Melo-Gomes JA; Paediatric Rheumatology International Trials Organisation. Paediatric Rheumatology International Trials Organization. The Brazilian version of the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) and the Child Health Questionnaire (CHQ). *Clin Exp Rheumatol*. 2001;19:S25-9.

Maillard SM, Jones R, Owens CM, Pilkington C, Woo PM, Wedderburn LR, Murray KJ. Quantitative Assessments of the effects of a single exercise session on muscles in Juvenile Dermatomyositis. *Arthritis Rheum.* 2005;53(4):558-64.

Mastaglia FL, Garlepp MJ, Phillips BA, Zilko, PJ. Inflammatory myopathies: clinical, diagnostic and therapeutic aspects. *Muscle Nerve.* 2003;27:407-25.

Menezes LG, Sobreira C, Neder L, Rodrigues-Júnior AL, Martinez JA. Creatine supplementation attenuates corticosteroid-induced muscle wasting and impairment of exercise performance in rats. *J Apply Physiol.* 2007;102(2):698-703.

Mina E, Brunner H. Pediatric Lúpus – Are there differences in presentation, genetics, response to Therapy, and damage accrual compared with adult lupus?. *Rheum Dis Clin N Am.* 2010;36:53-80.

Neves M, Jr., Gualano B, Roschel H, Fuller R, Benatti FB, AL DESP, Lima FR, Pereira RM, Lancha AH, Jr., Bonfa E. Beneficial effect of creatine supplementation in knee osteoarthritis. *Med Sci Sports Exerc.* 2011;43:1538-43.

Newcomer KL, Krug HE, Mahowald ML. Validity and reliability of the timed-stands test for patients with rheumatoid arthritis and other chronic diseases. *J Rheumatol.* 1993;20(1):21-7.

Nissen SL, Sharp RL. Effect of dietary supplements on lean mass and strength gains with resistance exercise: a meta-analysis. *J Appl Physiol.* 2003;94 (2):651-59.

Ogden CL, Kuczmarski RJ, Flegal KM, Mei Z, Guo S, Wei R, Grummer-Strawn LM, Curtin LR, Roche AF, Johnson CL. Centers for Disease Control and Prevention 2000 growth charts for the United States: improvements to the 1977 National Center for Health Statistics version. *Pediatrics.* 2002;109: 45-60.

Olsen S, Aagaard P, Kadi F, Tufekovic G, Verney J, Olesen JL, Suetta C, Kjaer M. Creatine supplementation augments the increase in satellite cell and myonuclei number in human skeletal muscle induced by strength training. *J Physiol.* 2006;573:525-34.

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

Park JH, Phothimat P, Oates CT, Hernanz-Schulman M, Olsen NJ. Use of P-31 magnetic resonance spectroscopy to detect metabolic abnormalities in muscles of patients with fibromyalgia. *Arthritis Rheum.* 1998;41(3):406-13.

Pluim BM, Ferrauti A, Broekhof F, Deutekom M, Gotzmann A, Kuipers H, Weber K. The effects of creatine supplementation on selected factors of tennis specific training. *Br J Sports Med.* 2006;40:507-12.

Podsiadlo D, Richardson S. The timed "Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons. *J Am Geriatr Soc.* 1991;39(2):142-8.

Polacow VO, Scagliusi FB, Lancha Jr AH. *Qualitative evaluation of an auxiliary tool for portion sizes estimation among a Brazilian sample.* In: 5th International Conference on Dietary Assessment Methods, 2003a, Chiang Rai. Expanding the Horizon: dietary assessment in a multi-cultural world: Program & Abstracts, 2003. p. C3.12-C3.12.

Polacow VO, Scagliusi FB, Lancha Jr AH. *Validation of a portion-size measurement aid in a Brazilian sample.* In: 5th International Conference on Dietary Assessment Methods, 2003b, Chiang Rai. Expanding the Horizon: Dietary Assessment in a Multi-Cultural World: Program & Abstracts, 2003. p. D 1.7-D 1.7.

Pecoraro P, Guida B, Caroli M, Trio R, Falconi C, Principato S, Pietrobelli A. Body mass index and skinfold thickness versus bioimpedance analysis: fat mass prediction in children. *Acta Diabetol.* 2003;40:278-81.

Poortmans JR, Auquier H, Renaut V, Durussel A, Saugy M, Brisson GR. Effect of short-term creatine supplementation on renal responses in men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1997;76(6):566-7.

Poortmans JR, Francaux M. Long-term oral creatine supplementation does not impair renal function in healthy athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 1999;31(8): 1108-10.

Poortmans JR, Francaux M. Adverse effects of creatine supplementation: fact or fiction?. *Sports Med.* 2000;30(3):155-70.

Poortmans JR, Kumps A, Duez P, Fofonka A, Carpentier A, Francaux M. Effect of oral creatine supplementation on urinary methylamine, formaldehyde, and formate. *Med Sci Sports Exerc.* 2005;37(10):1717-20.

Ravelli A, Duarte-Salazar C, Buratti S, Reiff A, Bernstein B, Maldonado-Velazquez MR, Beristain-Manterola R, Maeno N, Takei S, Gerloni V, Spencer CH, Pratsidou-Gertsis P, Ruperto N, Pistorio A, Martini A. Assessment of damage in juvenile-onset systemic lupus erythematosus: a multicenter cohort study. *Arthritis Rheum.* 2003;49:501-07.

Ravelli A, Ruperto N, Martini A. Outcome in juvenile onset systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol.* 2005; 17: 568-573.

Ravelli A, Trail L, Ferrari C, Ruperto N, Pistorio A, Pilkington C, Maillard S, Oliveira SK, Sztajnbock F, Cuttica R, Beltramelli M, Corona F, Katsikas MM, Russo R, Ferriani V, Burgos-Vargas R, Magni-Manzoni S, Solis-Vallejo E, Bandeira M, Zulian F, Baca V, Cortis E, Falcini F, Alessio M, Alpighiani MG, Gerloni V, Saad-Magalhaes C, Podda R, Silva CA, Lepore L, Felici E, Rossi F, Sala E, Martini A. Long-Term Outcome and Prognostic Factors of Juvenile Dermatomyositis: A Multinational, Multicenter Study of 490 Patients. *Arthritis Care Res.* 2010;62(1):63-72.

Rawson ES, Clarkson PM, Price TB, Miles MP. Differential response of muscle phosphocreatine to creatine supplementation in young and old subjects. *Acta Physiol Scand.* 2002;174:57-65.

Rider LG, Feldman BA, Perez MD, Rennebohm RM, Lindsley CB, Zemel L, Wallace CA, Ballinger SH, Bowyer SL, Reed AM, Passo MH, Katona IM, Miller FW, Lachenbruch PA. Development of validated disease activity and damage indices for the juvenile idiopathic inflammatory myopathies: I. Physician, parent and patient global assessments. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1976-83.

Safdar A, Nicholas JY, Snow R, Melo S, Tarnopolsky MA. Global and targeted gene expression and protein content in skeletal muscle of young men following short-term creatine monohydrate supplementation. *Physiol Genomics*. 2008;32(2):219-28.

Santiago RA, Silva CA, Caparbo VF, Sallum AM, Pereira RM. Bone mineral apparent density in juvenile dermatomyositis: the role of lean body mass and glucocorticoid use. *Scand J Rheumatol*. 2008;37:40-47.

Sato EI. *Reumatologia*. São Paulo: Manole; 2004. p.139-154: Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES).

Takken T, Elst E, Spermon N, Helders PJM, Prakken ABJ, Net J. The physiological and physical determinants of functional ability measures in children with juvenile dermatomyositis. *Rheumatology*. 2003;42:591-595.

Takken T, Net J, Helders PJM. Anaerobic exercise capacity in patients with Juvenile-Onset Idiopathic Inflammatory Myopathies. *Arthritis Rheum*. 2005;53(2):173-77.

Takken T, Net J, Engelbert RHH, Pater S, Helders PJM. Responsiveness of exercise parameters in children with inflammatory myositis. *Arthritis Rheum*. 2008;59(1):59-64.

Tanner JM. *Growth at adolescence*. 2^a ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1962.

Tarnopolsky M, Parise G, Fu MH, Brose A, Parshad A, Speer O, Wallimann T. Acute and moderate-term creatine monohydrate supplementation does not affect creatine transporter mRNA or protein content in either young or elderly humans. *Mol Cell Biochem*. 2003;244:159-166.

Tarnopolsky MA, Parise G. Direct measurement of high-energy phosphate compounds in patients with neuromuscular disease. *Muscle Nerve*. 1999;22(9):1228-33.

Tarnopolsky M, Martin J. Creatine monohydrate increases strength in patients with neuromuscular disease. *Neurology*. 1999;52(4):854-57.

Tarnopolsky MA, Mahoney DJ, Vajsar J, Rodriguez C, Doherty TJ, Roy BD, Biggar D. Creatine monohydrate enhances strength and body composition in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*. 2004;62:1771-77.

Terjung RL, Clarkson P, Eichner ER, Greenhaff PL, Hespel PJ, Israel RG, Kraemer WJ, Meyer RA, Spriet LL, Tarnopolsky MA, Wagenmakers AJ, Williams MH. American college of sports medicine roundtable. The physiological and health effects of oral creatine supplementation. *Med Sci Sports Exerc*. 2000;32(3):706-17.

Van der Merwe J, Brooks NE, Myburgh KH. Three weeks of creatine monohydrate supplementation affects dihydrotestosterone to testosterone ratio in college-aged rugby players. *Clin J Sport Med*. 2009;19(5):399-404.

Volek JS, Duncan ND, Mazzetti SA, Staron RS, Putukian M, Gómez AL, Pearson DR, Fink WJ, Kraemer WJ. Performance and muscle fiber adaptations to creatine supplementation and heavy resistance training. *Med Sci Sports Exerc*. 1999;31(8):1147-56.

Vorgerd M, Zange J, Kley R, Grehl T, Husing A, Jager M, Muller K, Schroder R, Mortier W, Fabian K, Malin JP, Luttmann A. Effect of high-dose creatine therapy on symptoms of exercise intolerance in McArdle disease: double-blind, placebo-controlled crossover study. *Arch Neurol*. 2002;59:97-101.

Walker JB, Hannan JK. Creatine biosynthesis during embryonic development. False feedback suppression of liver amidinotransferase by n-acetimidoysarcosine and 1-arboxymethyl-2-iminoimidazolidine (cyclocreatine). *Biochemistry*. 1976;15(12):2519-22.

Walker JB. Creatine: Biosynthesis, regulation, and function. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*. 1979;50:177-242.

Wallimann T, Tokarska-Schlattner M, Schlattner U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids*. 2011;40:1271-96.

Watson L, Leone V, Pilkington C, Tullus K, Rangaraj S, McDonagh JE, Gardner-Medwin J, Wilkinson N, Riley P, Tizard J, Armon K, Sinha MD, Ioannou Y, Archer N, Bailey K, Davidson J, Baildam EM, Cleary G, McCann LJ, Beresford MW; UK Juvenile-Onset Systemic Lupus Erythematosus Study Group. Disease activity, severity, and damage in the UK Juvenile-Onset Systemic Lupus Erythematosus Cohort. *Arthritis Rheum.* 2012;64:2356-65.

Wysenbeek AJ, Leibovici L, Weinberger A, Guedj D. Fatigue in systemic lupus erythematosus: prevalence and relation to disease expression. *Br J Rheumatol.* 1993;32:633-5.

Wyss M, Kaddurah-daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiological Reviews.* 2000;80(3):1107-213.

Zange J, Kornblum C, Muller K, Kurtscheid S, Heck H, Schroder R, Grehl T, Vorgerd M. Creatine supplementation results in elevated phosphocreatine/adenosine triphosphate (ATP) ratios in the calf muscle of athletes but not in patients with myopathies. *Ann Neurol.* 2002;52:126-27.

APÊNDICE

EFFICACY AND SAFETY OF CREATINE SUPPLEMENTATION IN CHILDHOOD-ONSET SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS: A RANDOMIZED DOUBLE-BLIND PLACEBO- CONTROLLED CROSS-OVER TRIAL

Ana Paula Hayashi¹, Marina Yazigi Solis¹, Marcelo Tatit Sapienza¹, Maria Concepción García Otaduy¹, Ana Lucia de Sá Pinto¹, Clóvis Artur Silva¹, Adriana Maluf Elias Sallum¹, Rosa Maria Rodrigues Pereira¹, Bruno Gualano^{1,2}

¹ School of Medicine – University of São Paulo, Brazil

Av. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar, 255 – Sao Paulo – SP – Brazil; CEP: 05403-000

² School of Physical Education and Sport – University of São Paulo, Brazil

Rua Professor Mello Moraes, 65 – Sao Paulo – SP – Brazil; CEP: 05025-010

Short title: Creatine and lupus

Correspondence:

Bruno Gualano

Faculdade de Medicina – Universidade de São Paulo -3º andar – sala 3105 - Divisão de Reumatologia - Av. Dr. Arnaldo, 455 - Cerqueira César, São Paulo, SP - Brazil

Postal code: 01246-903

Phone: + 55 11 3061.7213/ 3061.7490 FAX: + 55 11 3061.7490

e-mail: gualano@usp.br

E-mail addresses:

Ana Paula Hayashi - anapaulahayashi@gmail.com; Marina Y Solis - solis@usp.br; Marcelo T Sapienza - mtsapienza@hotmail.com; Maria CG Otaduy - mgotaduy@usp.br; Ana Lúcia de Sá-Pinto - analucia@move.med.br; Clovis A Silva - clovisaasilva@gmail.com, Adriana ME Sallum -

adriana.sallum@hc.fm.usp.br; Rosa Maria R Pereira - rosamariarp@yahoo.com; Bruno Gualano - gualano@usp.br

ABSTRACT

Introduction: Creatine supplementation has emerged as a promising non-pharmacological therapeutic strategy to counteract muscle dysfunction and low lean mass in a variety of conditions, including in pediatric and rheumatic diseases. The objective of this study was to examine the efficacy and safety of creatine supplementation in childhood systemic lupus erythematosus (C-SLE); **Methods:** C-SLE patients with mild disease activity (n=15) received placebo or creatine supplementation in a randomized fashion using a crossover, double-blind, repeated-measures design. The subjects were assessed at baseline and after 12 weeks in each arm, interspersed by a 8-week washout period. The primary outcomes was muscle function, as assessed by a battery of tests including one-maximum repetition (1-RM) tests, the timed-up-and-go test, the timed-stands test, and the handgrip test. Secondary outcomes included body composition, biochemical markers of bone remodeling, aerobic conditioning, quality of life, and physical capacity. Possible differences in dietary intake were assessed by three 24-h dietary recalls. Muscle phosphorylcreatine content was measured through phosphorus magnetic resonance spectroscopy (^{31}P -MRS). The safety of the intervention was assessed by laboratory parameters and kidney function was measured by the ^{51}Cr -EDTA clearance. Additionally, self-reported adverse events were recorded throughout the trial; **Results:** Intramuscular phosphorylcreatine content was not significantly different between creatine and placebo before or after the intervention (creatine - Pre: 20.5 ± 2.6 , Post: 20.4 ± 4.1 , placebo - Pre: 19.8 ± 2.0 ; Post: 20.2 ± 3.2 mmol/kg wet muscle; $p=0.70$ for interaction between conditions). In addition, probably as a consequence of the lack of change in intramuscular phosphorylcreatine content, there were no significant changes between placebo and creatine for any muscle function and aerobic conditioning parameters, lean mass, fat mass, bone mass, and quality of life scores ($p>0.05$). The ^{51}Cr -EDTA clearance was not altered by creatine supplementation and no side effects were noticed; **Conclusion:** a 12-week creatine supplementation protocol at 0.1 g/kg/d is well tolerable and free of adverse effects but did not affect intramuscular phosphorylcreatine, muscle function, free-fat mass or quality of life in non-active C-SLE patients; **Trial registration:** Clinicaltrials.gov number: NCT01217320.

KEY-WORDS: phosphorylcreatine, autoimmune disease, muscle metabolism, physical capacity.

INTRODUCTION

Childhood systemic lupus erythematosus (C-SLE) is a clinically heterogeneous, chronic autoimmune disease influenced by complex genetic and environmental factors that involves autoantibodies directed against nuclear antigens and immune complex deposition in organs [1]. It has been argued that C-SLE has a worse prognosis than adult-onset disease. Over the past few decades, the survival rate and the prognosis of C-SLE patients have improved as a consequence of advances in diagnosis, treatment and general medical care. However, there has been an increasing recognition of serious adverse events associated with the treatment as well as the disease itself, including loss of bone and muscle mass, muscle weakness, poor health-related quality of life, and decreased functional capacity [2-6]. In this scenario, the search for non-pharmacological strategies able to counteract these clinical features has been encouraged.

Creatine (methyl-guanidine-acetic acid) supplementation has emerged as a potentially efficient dietary intervention capable of promoting some clinical benefits in a broad range of diseases, including myopathies [7], type-2 diabetes [8], osteoarthritis [9], fibromyalgia [10], and cancer [11]. Creatine is synthesized by kidneys, pancreas, and liver (approximately 1–2 g/day), as well as ingested from food (approximately 1–5 g/day) [12]. The "creatine system" plays a pivotal role in rapid energy provision during muscle contraction involving the transfer of N-phosphoryl group from phosphorylcreatine to adenosine diphosphate (ADP) to regenerate adenosine triphosphate (ATP) through a reversible reaction catalyzed by phosphorylcreatine kinase (CK). In addition to its function as a temporal energy buffer, creatine/phosphorylcreatine also acts a spatial energy buffer to shuttle high-energy phosphates between mitochondria and cellular ATP utilization sites [13]. Although creatine is mainly localized at skeletal muscle (approximately 95%), there is evidence suggesting this amine has also an important bioenergetic role in other "excitable" tissues, such as bone, brain and heart (for a comprehensive review, see Wallimann *et al.* [14]).

Interestingly, creatine supplementation has been applied as an adjuvant treatment in a growing number of pediatric diseases characterized by disturbances in skeletal muscle system. For instance, creatine supplementation has been shown to be effective in promoting significant improvements in muscle function in young patients with dystrophinopathies [15, 16]. In fact, a recent meta-analysis of six trials in muscular dystrophies including 192 participants revealed a significant increase in muscle strength in the creatine group compared to placebo, with a mean difference of 8.47% (95% confidence intervals between 3.55 to 13.38) [17]. The positive effects of creatine supplementation is likely to be explained by an increased intramuscular creatine and phosphorylcreatine content, which may enhance energy provision and, hence, improve muscle strength and function (for a review, see Gualano *et al.* [18]). Moreover, creatine supplementation has also been suggested to affect muscle metabolism by activating satellite cells [19] and specific muscle growth factors (e.g., IGF-1, 4EBP-1) [20]. Interestingly, it has been shown that the effects of creatine supplementation may also be extended to bone tissue, where creatine may contribute to metabolic activity, differentiation, and mineralization of osteoblasts [21]. In support to this notion, it was showed that creatine supplementation increased bone mineral density by 3% and reduced urinary cross-linked N-telopeptides of type I collagen (NTx) (i.e., a marker of bone resorption) by 30% in children with Duchenne and Becker dystrophy [16].

Considering that both chronic and active C-SLE patients often experience muscle dysfunction, exercise intolerance, and loss of bone mass and muscle mass [22], and given that creatine supplementation has been shown to attenuate these features in several conditions, including in pediatric and rheumatic diseases [18], a controlled trial examining the potential benefits of creatine intake in C-SLE patients may be of clinical relevance.

Therefore, this study aimed to investigate the safety and efficacy of creatine supplementation in a cohort of C-SLE patients. It was hypothesized that creatine supplementation would be able to increase intramuscular phosphorylcreatine content, improve muscle function, and increase lean and bone mass. As a consequence, it was also expected that physical improvements would reflect in better health-related quality of life.

MATERIALS AND METHODS

Experimental Design

A 12-week clinical trial was conducted between November 2010 and June 2013 in Sao Paulo (Brazil). This study is reported according to the guidelines of the Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT). This study is part of a clinical trial aimed to investigate the safety and efficacy of creatine supplementation in C-SLE and juvenile dermatomyositis (registered at clinicaltrials.gov as NCT01217320).

The patients received placebo or creatine supplementation in a randomized fashion using a crossover, double-blind, repeated-measures design. The subjects were assessed at baseline (Pre) and after 12 weeks (Post) in each arm, interspersed by a 8-week washout period. At Pre, the patients were characterized in relation to maturational status (according to patterns of pubertal changes [23]) physical activity level (by the Short-version of the International Physical Activity Level Questionnaire [24]), cumulative damage (by the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR Damage Index [SLICC/ACR]) [25], disease activity (by the Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 (SLEDAI-2K) [26]), and the drug regime.

The primary outcome of efficacy was muscle function, as assessed by a battery of tests including one-maximum repetition (1-RM) tests, the timed-up-and-go test, the timed-stands test, and the handgrip test. Secondary outcomes of efficacy included lean, fat and bone mass, biochemical markers of bone remodeling, aerobic conditioning, quality of life, disease-related parameters, and physical capacity. Possible differences in dietary intake were assessed by three 24-h dietary recalls. Muscle PCR content was measured through phosphorus magnetic resonance spectroscopy (31P-MRS). The safety of the intervention was assessed by laboratory parameters and kidney function was measured by the ⁵¹Cr-EDTA clearance. Additionally, self-reported adverse events were recorded throughout the trial.

Patients

The patients were recruited into the study from the outpatient clinics of the Pediatric Rheumatology Unit (Children's Institute, Rheumatology Division, School of Medicine, University of Sao Paulo). All of the patients fulfilled the revised American College of Rheumatology criteria

[27] for C-SLE (disease onset prior to the age of 18 years) [28]. The inclusion criteria were as follows: *i)* SLEDAI-2K score arbitrarily ≤ 8 ; *ii)* stable dose of medication for at least 8 weeks; *iii)* prednisone dose inferior than 20 mg/d. Exclusion criteria included: *i)* macroalbuminuria; *ii)* glomerular filtration rate inferior than 30 mL/min/1.73m²; *iii)* use of hormonal contraceptives; *iv)* current pregnancy; *v)* diabetes mellitus; *vi)* hypothyroidism.

The study was approved by the Local Ethical Committee and all of the patients and their parents signed the informed consent. The experimental procedures were in accordance with the Helsinki Declaration revised in 2008.

Creatine supplementation protocol and blinding procedure

The patients received a single dose of 0.1 g/kg of creatine monohydrate (Probiotica, Sao Paulo, Brazil) or placebo (dextrose at the same dose) for 12 weeks. The patients were instructed to ingest the supplement preferably in juice, in order to mask both the low solubility of creatine and the taste of dextrose. The supplement packages were coded so that neither the investigators nor the participants were aware of the contents until completion of the analyses. The supplements were provided by a staff member of our research team who did not have any participation in the data acquisition, analyses, and interpretation. In order to verify the purity of the creatine used, a sample was analyzed by HPLC and purity was established as 99.9%.

Food intake assessment

Food intake was assessed by means of three 24-h dietary recalls undertaken on separate days (two week days and one weekend day) using a visual aid photo album of real foods. Energy and macronutrient intake were analyzed by the software Avanutri (Rio de Janeiro, Brazil). Creatine intake was estimated based on specific food composition tables [29, 30]. The dietary recalls were conducted with the patients with assistance of their parents.

Muscle phosphorylcreatine content

Muscle phosphorylcreatine content was assessed *in vivo* by 31P-MRS using a whole body 3.0T MRI scanner (Achieva Intera, Philips, Best, The Netherlands) and a 14 cm diameter 31P surface coil. In brief, the surface coil was placed centered under the calf muscle of the left

leg. The scanner body coil was used to obtain conventional anatomical T1-weighted magnetic resonance images in the three orthogonal planes. 31P-MRS was acquired using the image selected in vivo spectroscopy (ISIS) sequence with an echo time and repetition time of 0.62 ms and 4500 ms, respectively. Spectrum bandwidth was 3000 Hz with 2048 data points and 64 repetitions. Spectrum raw data were analyzed with Java Magnetic Resonance User Interface (jMRUI) software, and processing steps included apodization to 5Hz, Fourier transform and phase correction. The AMARES algorithm, a non-linear least square fitting algorithm operating in the time domain, was used for spectrum quantification taking into account the prior knowledge of inorganic phosphate, phosphodiester, and phosphorylcreatine singlets, α -ATP and γ -ATP doublets, and β -ATP triplets. The phosphorylcreatine signal was quantified relative to the γ -ATP signal, assuming a constant γ -ATP concentration of 5.5 mmol/kg.

31P-MRS scans were also obtained at baseline from healthy children ($n = 11$; boys and girls = 4/7; age = 15 ± 5 yr, BMI = 21.6 ± 3.8 kg/m²; $VO_{2max} = 41.3 \pm 5.7$) who were matched for age to the C-SLE patients.

Muscle function assessments

The patients underwent two familiarization sessions for strength tests, separated for at least 72 h. Prior to the 1-RM test, two light warm-up sets interspaced for two minutes were performed. Afterwards, the patients had up to five attempts to achieve the 1-RM load, with a three-minute interval between attempts. 1-RM tests were conducted for the leg press and bench press exercises.

Muscle function was also evaluated by the timed-stands and the timed-up-and-go tests. The timed-stands test assesses the time that a subject requires to rise from a standard arm chair, walk to a line on the floor three meters away, turn, return, and sit down again [31], whilst the timed-up-go test evaluates the maximum number of stand-ups that a subject can perform from a standard armless chair for 30 seconds [32].

Aerobic conditioning

The patients underwent a treadmill cardiopulmonary to assess aerobic conditioning according to a previous description [33]. Attainment of VO_{2max} was accepted when two of the

following three criteria were met: *i)* a plateau in VO_2 ; *ii)* a respiratory exchange ratio > 1.1 ; and/or *iii)* volitional exhaustion. The ventilatory anaerobic threshold (VAT) was determined to occur at the break point between the increase of carbon dioxide output (VCO_2) and VO_2 . The respiratory compensation point (RCP) was determined to occur where the ventilatory equivalent for carbon dioxide (VE/VCO_2 ratio) was the lowest before a systematic increase.

Bone mineral density and body composition

Bone mineral density and body composition (i.e., lean and fat mass) were measured by dual X-ray absorptiometry (DXA) with a pediatric software, using a Hologic QDR 4500A densitometry equipment (Hologic Inc. Bedford, MA, USA, Discovery model). Bone mineral density was determined at the following sites: lumbar spine, total femur, and whole body. Bone area (BA) was calculated using the software provided with the densitometer. The whole body analysis was conducted without considering the head as it has been described to increase variability in children [34]. To minimize the confounding effect of skeletal size on DXA measurements, a volumetric, three-dimensional approximation of bone density - i.e., bone mineral apparent density (BMAD) - was calculated. BMAD was assessed by dividing the BMD in a given site (i.e. the spine, total femur, or whole body) by the square root of the corresponding body area ($\text{BMAD} = \text{BMD}/\sqrt{\text{BA}}$) [35, 36]. All of the measurements were carried out by the same trained technologist. The precision errors for bone mineral density measurements were determined based on the standard protocols from The International Society for Clinical Densitometry (ISCD) [37]. The least significant change is considered to be 0.033 g/cm^2 , 0.039 g/cm^2 , and 0.010 g/cm^2 for the lumbar spine, the total femur, and the whole body, respectively [38].

Functional capacity and quality of life parameters

C-SLE functional capacity was assessed by the Brazilian version of Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) [39]. Health-related quality of life was evaluated by patients' and parents' subscales from the Brazilian version of Pediatric Quality of Life Inventory (PedsQL) [24]. Patients', parents', and physicians' global assessment subscales from the Visual Analogue Scale (VAS) were also assessed.

Serum bone markers

Blood samples were collected following a 12-h overnight fast (between 8:00 and 10:00 a.m.), and stored at - 70°C for subsequent analyses. Type I collagen C-telopeptide (CTX) and Procollagen type I N-propeptide (P1NP) serum concentrations were determined by an automated Roche electrochemiluminescence system (E411, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). The serum CTX limit of detection was 10 ng/L and the intra-assay and inter-assay coefficients of variation (CVs) were 2.5% and 3.4%, respectively. Serum P1NP intra-assay and inter-assay CVs were 2.2% and 1.8%, respectively, with a limit of detection of 5 µg/L.

Safety analysis

Safety analysis included the assessment of laboratory parameters of inflammation, kidney and liver function, hematology, and serum skeletal muscle enzymes. Possible disease flare episodes were monitored throughout the study. The patients were advised to report any sort of adverse events.

⁵¹Cr-EDTA clearance

To complement the safety analysis in this trial, the ⁵¹Cr-EDTA clearance was also performed as the gold-standard for measuring the glomerular filtration rate.

After a 24h-protein-restricted diet and a 12-h overnight fasting, the participants were admitted to the clinical research center at 7:00 a.m., where they rested in a supine position with an indwelling polyethylene catheter inserted into a cubital vein in both arms. A single dose of 3.7MBq (100 µCi) of the ⁵¹Cr-EDTA tracer, in a volume of 1 mL was injected intravenously in the right arm. The catheter was flushed through with 10 mL of saline. Accurately timed 10-mL blood-samples were drawn into a heparinized tube from the opposite arm at 4 and 6 h after the injection. The plasma disappearance curve was designed using the results of these time-points. To measure the radioisotope activity, the blood samples were centrifuged at 1500 g for 10 min and 3 mL of plasma was measured in a well-calibrated counter (Genesys Genii™, LabLogic Systems Inc, Brandon, Florida, USA) for the energy of chromium-51 (320 keV). Each sample, including 3 mL of standard solution taken as an aliquot from 3.7MBq (100 µCi) ⁵¹Cr-EDTA diluted to 500 mL in saline, was counted for 5 min. The plasma clearance rate was calculated

by the slope-intercept method with a single-compartment model, which assumes that the tracer spreads out immediately after injection in its volume of distribution. The Brochner–Mortensen method was used for correcting systematic errors of the slope-intercept technique according to the following equation:

$$Cl_c = 0.9908 \times Cl_{nc} - 0.001218 \times Cl_{nc}^2$$

where Cl_c is the clearance corrected for the first exponential and Cl_{nc} is the non-corrected clearance. ^{51}Cr -EDTA clearance was corrected for 1.73 m^2 body surface area. The CV for ^{51}Cr -EDTA clearance was 9.7%.

Sample size estimation and statistical analysis

The sample size was estimated with the assistance of the G-Power[®] software (version 3.1.2, Germany). Based on previous data from a study involving young dystrophic patients supplemented with creatine [40], it was estimated that 10 patients would be needed to provide 95% power ($\alpha = 0.05$; estimated effect size of 0.66) for muscle strength, which was a primary outcome in this clinical trial. In order to account for midtrial withdrawals, the study population was enlarged to 18 participants.

Each comparison was by intention to treat, irrespective of compliance with supplement intake. Shapiro-Wilk tests revealed that data were normally distributed, except for PedsQL scores. Data were tested by Mixed Model with repeated measures using the software SAS version 9.1. A post-hoc test adjusted by Tukey was used for multicomparison purposes. Fisher's test was applied to assess the efficacy of the blinding procedure. Mann-Whitney U test was used to compare conditions for data with non-parametric distribution (i.e., PedsQL, C-HAQ, and VAS).

A post-hoc analysis was conducted between sub-groups composed by "responsive" (those who increased muscle phosphorylcreatine content) and "non-responsive" patients (those who did not increase muscle phosphorylcreatine content). To that end, T-tests were used to compare the delta scores (i.e., Post - Pre values) between the sub-groups for all muscle function parameters. In addition, Person's correlations were performed between the delta scores for

muscle phosphorylcreatine content and all muscle function parameters following the creatine supplementation.

Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation, delta scores, effect size (ES; as calculated by the Cohen's test), difference between delta scores, and 95% confidence interval (95% CI), except when otherwise stated. The significance level was previously set at $p < 0.05$.

RESULTS

Patients

The flow chart of patients is shown in Figure 1. From the 192 patients from the ambulatory, 18 patients were selected, but 3 were subsequently lost before commencing the intervention. Thus, 15 patients completed the protocol. Two patients had disease flare (patients #4 in the placebo arm patient #10 in the creatine arm). The medications were changed (i.e., therapy with 40 and 20 mg of prednisone for patients #4 and #10, respectively, and azathioprine increase from 100 to 150 mg for patient #4) and the patients completed the protocol. All analyses were carried out with and without these patients and the results remained virtually the same, therefore we decided to express the data comprising all the participants. Patients' characteristics are expressed in Table 1.

Assessment of blinding

Four (26.7%) and two patients (13.3%) correctly identified their supplements in the creatine and in the placebo arms, respectively ($p > 0.05$ between conditions). Thirteen patients (86.7%) self-reported 100% of adherence to the supplementation protocol, whereas patients #11 and #10 self-reported 50% and 85% of compliance.

Food intake

Total energy, macronutrients and creatine intake did not significantly differ within or between conditions ($p > 0.05$ for all variables) (Table 2).

Muscle phosphorylcreatine content

Intramuscular phosphorylcreatine content was comparable between conditions at baseline ($p = 0.93$). There were no significant changes within or between conditions following the intervention (creatine - Pre: 20.5 ± 2.6 , Post: 20.4 ± 4.1 , delta score = -0.1 ± 3.1 mmol/kg wet muscle, ES = -0.04; placebo - Pre: 19.8 ± 2.0 ; Post: 20.2 ± 3.2 ; delta score = 0.3 ± 3.1 mmol/kg wet muscle, ES = 0.17; 95% CI for delta score = -1.9 ± 2.8 , $p = 0.70$ for interaction between creatine and placebo). Figure 2 illustrates the data regarding muscle phosphorylcreatine content.

Healthy children (18.8 ± 2.5 mmol/kg wet muscle) showed comparable phosphorylcreatine content to that of the C-SLE patients (20.5 ± 2.6 mmol/kg/ wet muscle; $p = 0.12$).

Muscle function and aerobic conditioning

Table 3 shows the muscle strength, physical function, and aerobic capacity data. There were no changes between conditions at baseline ($p > 0.05$ for all variables). Main time effects were detected for 1-RM leg press and timed-stands test ($p = 0.005$ and $p = 0.02$, respectively). However, mixed model analysis revealed no interaction effect (i.e., placebo versus creatine) for the performance in the 1-RM leg press, 1-RM bench press, timed-stands test, timed-up-and-go test, and handgrip ($p > 0.05$ for all variables). Additionally, aerobic conditioning parameters remained unchanged within or between conditions ($p > 0.05$ for all variables).

Bone mineral density, body composition and serum bone markers

Main time effects were observed for body mass, height, lean mass, BMC and BMAD at L1-L4 and whole body ($p < 0.05$ for all variables). However, there were no changes between conditions in body mass, height, lean mass, fat mass, BMC, and BMAD in any assessed sites. Similarly, no changes in serum CTX and P1NP concentrations were detected after the intervention (Table 4).

Functional capacity and quality of life parameters

Table 5 shows the data regarding the CHAQ, PedsQL, and VAS. There were no changes between conditions for any of the variables ($p > 0.05$).

Laboratory parameters and adverse events

All of the laboratory parameters remained unchanged throughout the intervention. ^{51}Cr -EDTA clearance did not significantly differ within or between conditions (Table 6). Also, there were no self-reported side effects throughout the study.

Post-hoc analysis of efficacy

In order to further explore the possible efficacy of creatine supplementation on muscle function, the changes in muscle function parameters were compared between the sub-group composed by those patients who increased muscle phosphorylcreatine content after the intervention ($n = 7$; average improvement: +2.5; range: +0.4 to 4.8 mmol/kg wet muscle) and those who did not ($n = 8$; average reduction: -2.4; range: -6.3 to -0.7 mmol/kg wet muscle). Although muscle phosphorylcreatine was significantly different between the sub-groups ($p = 0.01$), none of the muscle function parameters was significantly different between them ($p > 0.05$). Additionally, the changes in muscle phosphorylcreatine content were not significantly associated with the changes in muscle function parameters after creatine supplementation ($p > 0.05$; $r = -0.01$ to 0.21).

DISCUSSION

This clinical trial aimed to examine the efficacy and safety of creatine supplementation in C-SLE patients with mild disease activity. Overall, the creatine intervention did not result in any significant improvements in muscle function, physical capacity, bone mineral density, lean mass, and health-related quality of life. Whilst a 12-week creatine protocol at 0.1 g/kg/d was well-tolerable and did not provoke any adverse effects in the present study, it did not lead to measurable increases in muscle phosphorylcreatine content, which likely explains the lack of positive results.

Creatine supplementation has been proven to be useful as an adjunctive dietary therapy in a wide range of diseases/conditions, mostly in those characterized by muscle weakness and physical disabilities, such as myopathies [7], type-2 diabetes [8], osteoarthritis [9], fibromyalgia [10], and cancer [11]. Interestingly, the therapeutic application of creatine may be extended to pediatric populations. In this respect, there are meta-analytic data comprising six trials indicating a muscle function improvement of 8.47% on average in patients with dystrophinopathies [17]. Furthermore, from previous observations in the literature, one might expect beneficial changes in body composition following creatine supplementation [15]. For instance, Bourgeois *et al.* [11] demonstrated that 16 weeks of creatine supplementation (0.1 g/kg/d) attenuated body fat accumulation in children with acute lymphoblastic leukemia treated with corticosteroids as part of a maintenance protocol of chemotherapy. Moreover, Tarnopolsky *et al.* [15] reported greater gains in lean mass in Duchenne patients supplemented with creatine (0.1 g/kg/d for 16 weeks) as compared to placebo. Since C-SLE patients may experience low muscle strength and function, excessive body fat accumulation and loss of lean mass [2-4], it was speculated that creatine supplementation could partially prevent these adverse outcomes.

Nonetheless, in contrast to this hypothesis, no changes in muscle function or body composition were noticed, suggesting that creatine supplementation is ineffective in C-SLE. The most reasonable explanation for the extensive "negative" results in this trial refers to the inability of creatine supplementation in yielding sufficient increase in intramuscular phosphorylcreatine content. In fact, this argument has been postulated as the main reason for unsuccessful outcomes in clinical trial involving creatine supplementation [41]. It has been consistently demonstrated that an augment in muscle creatine/phosphorylcreatine induced by dietary creatine intake improves the energy production and shuttling via the creatine kinase system, ultimately leading to improvements in muscle function in both healthy and diseased individuals [14, 18]. Additionally, increased muscle creatine/phosphorylcreatine has been associated with protein synthesis stimulation, which could result in lean mass accretion [20, 42].

Intriguingly, there is evidence showing creatine supplementation at lower doses than those used in the current study (i.e., 0.1 g/kg/d) are sufficient to increase intramuscular phosphorylcreatine content in young healthy subjects [43], patients with type-2 diabetes [8] and elderly subjects [44]. As similar creatine dosing regimens were able to increase muscle

phosphorylcreatine content in young athletes, but not in patients with Becker's dystrophy [45], Tarnopolsky *et al.* [41] speculated that physical activity may be a contributing factor in optimizing muscle creatine uptake. Assuming this hypothesis to be true, one could suggest that the physical inactivity of the C-SLE patients could partially explain the attenuated response to creatine supplementation. Nonetheless, patients with fibromyalgia, who are normally hypoactive, appeared to be highly responsive to creatine supplementation in terms of increase in muscle phosphorylcreatine content [10], suggesting that physical activity has a minor (if any) role in the creatine uptake following creatine supplementation. Alternatively, it has been postulated that intrinsic difference(s) in the skeletal muscle could account for the apparent inability/attenuation of patients to increase muscle creatine content in response to creatine supplementation. In this regard, it was demonstrated that dystrophic muscle may show a lower creatine transporter protein content [46] or an impaired uptake/release creatine kinetics [47], which likely contributes to the reduced ability to respond to creatine supplementation in dystrophinopathies. The fact that the patients did not respond to creatine supplementation in the current study suggests that some abnormalities in the creatine metabolism may also take place in C-SLE, although there is no direct evidence supporting this assumption. In fact, intramuscular phosphorylcreatine content was comparable between healthy controls and C-SLE patients in the current study, apparently suggesting a normal creatine metabolism in C-SLE. However, the present sample was composed by patients with mild disease activity, thus one cannot rule out the possibility that patients with more severe muscle involvement may show a decline in intramuscular phosphorylcreatine content. Finally, it is worth noting that, to our knowledge, there is no study to show the typical response to a creatine loading in healthy children. In the absence of such a data, it remains uncertain as whether higher doses than those used in adult or older individuals are necessary to elicit significant increments on intramuscular creatine/phosphorylcreatine content in pediatric populations.

In disagreement to other observations [16], creatine supplementation failed to increase bone mass or improve bone markers profile in this study. A previous study showed that creatine supplementation was able to increase bone mineral density by 3% and reduce urinary NTx by 30% in patients with Duchenne dystrophy using corticoid therapy [16]. These contradictory results are hard to reconcile considering the clear divergences in the studied samples.

Considering the well-established reduction in bone mass seen in C-SLE [5], further studies with longer follow-up periods remain necessary.

Despite of the lack of efficacy of creatine in this trial, the intervention was well tolerated and did not lead to kidney deterioration or any other adverse event. In contrast to a few case studies suggesting that creatine may be responsible for impairment in kidney function, a growing number of evidence have consistently refuted these allegation in a variety of younger and older populations [48-51]. The present study adds to the literature in providing compelling evidence that creatine supplementation does not affect glomerular filtration rate (as measured by the gold-standard technique ^{51}Cr -EDTA clearance) in children and adolescents with lupus. Further confirmatory studies should be performed with healthy pediatric populations before generalizing these findings.

This study is not without limitations. First, the sample was composed by patients with unique characteristics (e.g., non-active primary disease, age between 10 and 18 years, stable dose of medications). Given that C-SLE is a heterogeneous disease with a broad spectrum of symptoms, this finding cannot be extrapolated to all C-SLE patients. Second, it is well-known that creatine effects are more pronounced along with a resistance training program. Therefore, additional studies should test the possible synergic effect of creatine and exercise as a potential intervention able to counteract muscle dysfunction in C-SLE. Third, it was beyond the scope of the current study to examine a possible dose-response effect of creatine supplementation in C-SLE. Studies with elderly and young subjects demonstrated that creatine supplementation does not induce downregulation of creatine transporter [52], suggesting that a potential for higher doses of creatine in C-SLE exists. However, caution should be exercised as high-doses of creatine supplementation worsened the main clinical symptoms of exercise intolerance in a trial with McArdle disease [53]. Based on data from the literature, Vorgerd *et al.* [53] suggested that an effective creatine dosing regimen without adverse effects may be between 0.06 and 0.15 g/kg/d in McArdle disease, which is within the protocol used in the current study. The optimal dose of creatine supplementation remains to be shown in C-SLE.

In conclusion, a 12-week creatine supplementation protocol at 0.1 g/kg/d is well tolerable and free of adverse effects but did not affect intramuscular phosphorylcreatine, muscle

function, free-fat mass or health-related quality of life in C-SLE patients with mild disease activity.

LIST OF ABBREVIATIONS

1-RM	One-maximum repetition
³¹ P-MRS	Phosphorus magnetic resonance spectroscopy
BA	Bone area
BMAD	Bone mineral apparent density
BMC	Bone mineral content
BMD	Bone mineral density
CHAQ	Childhood health assessment questionnaire
CI	Confidence interval
C -SLE	Childhood systemic lupus erythematosus
CTX	Type I collagen C-telopeptide
CVs	Coefficients of variation
DXA	Dual X- ray absorptiometry
ISCD	International society for clinical densitometry
ISIS	Image selected in vivo spectroscopy
jMRUI	Java Magnetic Resonance User Interface
NTx	N-telopeptides of type I collagen
P1NP	Procollagen type I N-propeptide
PedsQL	Pediatric quality of life inventory
RCP	Respiratory compensation point
SLEDAI-2K	Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000
SLICC/ACR	Systemic lupus international collaborating clinics/ACR damage index
VAS	Visual analogue scale
VAT	Ventilatory anaerobic threshold
VCO ₂	Carbon dioxide output
VE/VCO ₂	Ventilatory equivalent for carbon dioxide

AUTHOR-'S CONTRIBUTIONS

Significant manuscript writer – Bruno Gualano, Ana Paula Hayashi

Significant manuscript reviewer/reviser – Ana Lucia de Sá-Pinto, Clóvis Artur Silva, Maria Concepción García Otaduy, Marcelo Tatiti Sapienza, Adriana Malluf Elias Sallum, Marina Yazigi Solis

Concept and design – Bruno Gualano, Clóvis Artur Silva

Data acquisition – Ana Paula Hayashi, Marina Yazigi Solis, Ana Lucia de Sá Pinto, Maria Concepción García Otaduy, Marcelo Tatiti Sapienza, Adriana Malluf Elias Sallum, Rosa Maria Pereira

Data analysis and interpretation – Bruno Gualano, Ana Paula Hayashi, Rosa Maria Pereira, Maria Concepción García Otaduy, Clóvis Artur Silva, Adriana Malluf Elias Sallum

Statistical expertise – Bruno Gualano

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to the following public funding agencies: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 302724/2011-7 to CAS and 300559/2009-7 to RMRP). Federico Foundation to CAS and RMRP; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior to APH; Fundação do Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2010/18708-1 to BG and 2008/58238-4 to CAS); Núcleo de Apoio à Pesquisa “Saúde da Criança e do Adolescente” da USP (NAP-CriAd) to CAS. In addition, we would like to thank Probiotica for providing the creatine supplements.

REFERENCES

1. Watson L, Leone V, Pilkington C, Tullus K, Rangaraj S, McDonagh JE, Gardner-Medwin J, Wilkinson N, Riley P, Tizard J, Armon K, Sinha MD, Ioannou Y, Archer N, Bailey K, Davidson J, Baidam EM, Cleary G, McCann LJ, Beresford MW; UK Juvenile-Onset Systemic Lupus Erythematosus Study Group: **Disease activity, severity, and damage in the UK Juvenile-Onset Systemic Lupus Erythematosus Cohort.** *Arthritis Rheum*, **64**:2356-2365.
2. Ravelli A, Duarte-Salazar C, Buratti S, Reiff A, Bernstein B, Maldonado-Velazquez MR, Beristain-Manterola R, Maeno N, Takei S, Gerloni V, Spencer CH, Pratsidou-Gertsis P, Ruperto N, Pistorio A, Martini A: **Assessment of damage in juvenile-onset systemic lupus erythematosus: a multicenter cohort study.** *Arthritis Rheum* 2003, **49**:501-507.
3. Ravelli A, Ruperto N, Martini A: **Outcome in juvenile onset systemic lupus erythematosus.** *Curr Opin Rheumatol* 2005, **17**:568-573.
4. Lilleby V, Haugen M, Morkrid L, Frey Frosli K, Holven KB, Forre O: **Body composition, lipid and lipoprotein levels in childhood-onset systemic lupus erythematosus.** *Scand J Rheumatol* 2007, **36**:40-47.
5. Alsufyani KA, Ortiz-Alvarez O, Cabral DA, Tucker LB, Petty RE, Nadel H, Malleson PN: **Bone mineral density in children and adolescents with systemic lupus erythematosus, juvenile dermatomyositis, and systemic vasculitis: relationship to disease duration, cumulative corticosteroid dose, calcium intake, and exercise.** *J Rheumatol* 2005, **32**:729-733.
6. Regio P, Bonfa E, Takayama L, Pereira R: **The influence of lean mass in trabecular and cortical bone in juvenile onset systemic lupus erythematosus.** *Lupus* 2008, **17**:787-792.
7. Tarnopolsky M, Martin J: **Creatine monohydrate increases strength in patients with neuromuscular disease.** *Neurology* 1999, **52**:854-857.
8. Gualano B, de Salles Painelli V, Roschel H, Artioli GG, Junior MN, Lucia de Sa Pinto A, Rossi da Silva ME, Cunha MR, Otaduy MC, da Costa Leite C, Ferreira JC, Pereira RM, Brum PC, Bonfá E, Lancha AH Jr: **Creatine in Type 2 Diabetes: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial.** *Med Sci Sports Exerc* 2011, **43**:770-8.
9. Neves M, Jr., Gualano B, Roschel H, Fuller R, Benatti FB, AL DESP, Lima FR, Pereira RM, Lancha AH, Jr., Bonfa E: **Beneficial effect of creatine supplementation in knee osteoarthritis.** *Med Sci Sports Exerc* 2011, **43**:1538-1543.
10. Alves CR, Santiago BM, Lima FR, Otaduy MC, Calich AL, Tritto AC, de Sa Pinto AL, Roschel H, Leite CC, Benatti FB, Bonfá E, Gualano B: **Creatine supplementation in fibromyalgia: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial.** *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013, **65**:1449-59.
11. Bourgeois JM, Nagel K, Pearce E, Wright M, Barr RD, Tarnopolsky MA: **Creatine monohydrate attenuates body fat accumulation in children with acute lymphoblastic leukemia during maintenance chemotherapy.** *Pediatr Blood Cancer* 2008, **51**:183-187.
12. Wyss M, Kaddurah-Daouk R: **Creatine and creatinine metabolism.** *Physiol Rev* 2000, **80**:1107-1213.
13. Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM: **Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis.** *Biochem J* 1992, **281**:21-40.
14. Wallimann T, Tokarska-Schlattner M, Schlattner U: **The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine.** *Amino Acids* 2011, **40**:1271-1296.
15. Tarnopolsky MA, Mahoney DJ, Vajsaar J, Rodriguez C, Doherty TJ, Roy BD, Biggar D: **Creatine monohydrate enhances strength and body composition in Duchenne muscular dystrophy.** *Neurology* 2004, **62**:1771-1777.
16. Louis M, Lebacqz J, Poortmans JR, Belpaire-Dethiou MC, Devogelaer JP, Van Hecke P, Goubel F, Francaux M: **Beneficial effects of creatine supplementation in dystrophic patients.** *Muscle Nerve* 2003, **27**:604-610.

17. Kley RA, Tarnopolsky MA, Vorgerd M: **Creatine for treating muscle disorders.** *Cochrane Database Syst Rev*, 6:CD004760.
18. Gualano B, Roschel H, Lancha-Jr AH, Brightbill CE, Rawson ES: **In sickness and in health: the widespread application of creatine supplementation.** *Amino Acids* 2012, 43:519-529.
19. Olsen S, Aagaard P, Kadi F, Tufekovic G, Verney J, Olesen JL, Suetta C, Kjaer M: **Creatine supplementation augments the increase in satellite cell and myonuclei number in human skeletal muscle induced by strength training.** *J Physiol* 2006, 573:525-534.
20. Deldicque L, Louis M, Theisen D, Nielens H, Dehoux M, Thissen JP, Rennie MJ, Francaux M: **Increased IGF mRNA in human skeletal muscle after creatine supplementation.** *Med Sci Sports Exerc* 2005, 37:731-736.
21. Gerber I, ap Gwynn I, Alini M, Wallimann T: **Stimulatory effects of creatine on metabolic activity, differentiation and mineralization of primary osteoblast-like cells in monolayer and micromass cell cultures.** *Eur Cell Mater* 2005, 10:8-22.
22. Houghton KM, Tucker LB, Potts JE, McKenzie DC: **Fitness, fatigue, disease activity, and quality of life in pediatric lupus.** *Arthritis Rheum* 2008, 59:537-545.
23. Marshall WA, Tanner JM: **Variations in the pattern of pubertal changes in boys.** *Arch Dis Child* 1970, 45:13-23.
24. Klatchoian DA, Len CA, Terreri MT, Silva M, Itamoto C, Ciconelli RM, Varni JW, Hilario MO: **Quality of life of children and adolescents from Sao Paulo: reliability and validity of the Brazilian version of the Pediatric Quality of Life Inventory version 4.0 Generic Core Scales.** *J Pediatr* 2008, 84:308-315.
25. Brunner HI, Silverman ED, To T, Bombardier C, Feldman BM: **Risk factors for damage in childhood-onset systemic lupus erythematosus: cumulative disease activity and medication use predict disease damage.** *Arthritis Rheum* 2002, 46:436-444.
26. Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB: **Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000.** *J Rheumatol* 2002, 29:288-291.
27. Hochberg MC: **Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus.** *Arthritis Rheum* 1997, 40:1725.
28. Silva CA, Avcin T, Brunner HI: **Taxonomy for systemic lupus erythematosus with onset before adulthood.** *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 64:1787-1793.
29. Harris RC, Lowe JA, Warnes K, Orme CE: **The concentration of creatine in meat, offal and commercial dog food.** *Res Vet Sci* 1997, 62:58-62.
30. Hulsemann J, Manz F, Wember T, Schoch G: **Administration of creatine and creatinine with breast milk and infant milk preparations.** *Klin Padiatr* 1987, 199:292-295.
31. Newcomer KL, Krug HE, Mahowald ML: **Validity and reliability of the timed-stands test for patients with rheumatoid arthritis and other chronic diseases.** *J Rheumatol* 1993, 20:21-27.
32. Podsiadlo D, Richardson S: **The timed "Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons.** *J Am Geriatr Soc* 1991, 39:142-148.
33. Prado DM, Benatti FB, de Sa-Pinto AL, Hayashi AP, Gualano B, Pereira RM, Sallum AM, Bonfa E, Silva CA, Roschel H: **Exercise training in childhood-onset systemic lupus erythematosus: a controlled randomized trial.** *Arthritis Res Ther*, 15:R46.
34. Pecoraro P, Guida B, Caroli M, Trio R, Falconi C, Principato S, Pietrobelli A: **Body mass index and skinfold thickness versus bioimpedance analysis: fat mass prediction in children.** *Acta Diabetol* 2003, 40 Suppl 1:S278-281.
35. Carter DR, Bouxsein ML, Marcus R: **New approaches for interpreting projected bone densitometry data.** *J Bone Miner Res* 1992, 7:137-145.
36. Santiago RA, Silva CA, Caparbo VF, Sallum AM, Pereira RM: **Bone mineral apparent density in juvenile dermatomyositis: the role of lean body mass and glucocorticoid use.** *Scand J Rheumatol* 2008, 37:40-47.
37. Baim S, Wilson CR, Lewiecki EM, Luckey MM, Downs RW, Jr., Lentle BC: **Precision assessment and radiation safety for dual-energy X-ray absorptiometry: position paper of the International Society for Clinical Densitometry.** *J Clin Densitom* 2005, 8:371-378.

38. Lopes JB, Danilevicius CF, Takayama L, Caparbo VF, Menezes PR, Scazufca M, Kuroishi ME, Pereira RM: **Prevalence and risk factors of radiographic vertebral fracture in Brazilian community-dwelling elderly.** *Osteoporos Int* 2011, **22**:711-719.
39. Machado CS, Ruperto N, Silva CH, Ferriani VP, Roscoe I, Campos LM, Oliveira SK, Kiss MH, Bica BE, Sztajnbock F, et al: **Paediatric Rheumatology International Trials Organisation. The Brazilian version of the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) and the Child Health Questionnaire (CHQ).** *Clin Exp Rheumatol* 2001, **19**:S25-29.
40. Gotshalk LA, Kraemer WJ, Mendonca MA, Vingren JL, Kenny AM, Spiering BA, Hatfield DL, Fragala MS, Volek JS: **Creatine supplementation improves muscular performance in older women.** *Eur J Appl Physiol* 2008, **102**:223-231.
41. Tarnopolsky M, Mahoney D, Thompson T, Naylor H, Doherty TJ: **Creatine monohydrate supplementation does not increase muscle strength, lean body mass, or muscle phosphocreatine in patients with myotonic dystrophy type 1.** *Muscle Nerve* 2004, **29**:51-58.
42. Deldicque L, Theisen D, Bertrand L, Hespel P, Hue L, Francaux M: **Creatine enhances differentiation of myogenic C2C12 cells by activating both p38 and Akt/PKB pathways.** *Am J Physiol Cell Physiol* 2007, **293**:C1263-1271.
43. Hultman E, Soderlund K, Timmons JA, Cederblad G, Greenhaff PL: **Muscle creatine loading in men.** *J Appl Physiol* 1996, **81**:232-237.
44. Rawson ES, Clarkson PM, Price TB, Miles MP: **Differential response of muscle phosphocreatine to creatine supplementation in young and old subjects.** *Acta Physiol Scand* 2002, **174**:57-65.
45. Zange J, Kornblum C, Muller K, Kurtscheid S, Heck H, Schroder R, Grehl T, Vorgerd M: **Creatine supplementation results in elevated phosphocreatine/adenosine triphosphate (ATP) ratios in the calf muscle of athletes but not in patients with myopathies.** *Ann Neurol* 2002, **52**:126; author reply 126-127.
46. Tarnopolsky MA, Parise G: **Direct measurement of high-energy phosphate compounds in patients with neuromuscular disease.** *Muscle Nerve* 1999, **22**:1228-1233.
47. Fitch CD, Moody LG: **Creatine metabolism in skeletal muscle. V. An intracellular abnormality of creatine trapping in dystrophic muscle.** *Proc Soc Exp Biol Med* 1969, **132**:219-222.
48. Lugaresi R, Leme M, de Salles Painelli V, Murai IH, Roschel H, Sapienza MT, Lancha Junior AH, Gualano B: **Does long-term creatine supplementation impair kidney function in resistance-trained individuals consuming a high-protein diet?** *J Int Soc Sports Nutr* 2013, **10**:26.
49. Gualano B, Ugrinowitsch C, Novaes RB, Artioli GG, Shimizu MH, Seguro AC, Harris RC, Lancha AH, Jr.: **Effects of creatine supplementation on renal function: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial.** *Eur J Appl Physiol* 2008, **103**:33-40.
50. Gualano B, Coelho DF, Seguro AC, Sapienza MT, Lancha Junior AH: **Effect of short-term, high-dose creatine supplementation on measured GFR in a young man with a single kidney.** *Am J Kidney Dis* 2009.
51. Gualano B, de Salles Painelli V, Roschel H, Lugaresi R, Dorea E, Artioli GG, Lima FR, da Silva ME, Cunha MR, Seguro AC, Shimizu MH, Otaduy MC, Sapienza MT, da Costa Leite C, Bonfá E, Lancha Junior AH: **Creatine supplementation does not impair kidney function in type 2 diabetic patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial.** *Eur J Appl Physiol* 2010.
52. Tarnopolsky M, Parise G, Fu MH, Brose A, Parshad A, Speer O, Wallimann T: **Acute and moderate-term creatine monohydrate supplementation does not affect creatine transporter mRNA or protein content in either young or elderly humans.** *Mol Cell Biochem* 2003, **244**:159-166.
53. Vorgerd M, Zange J, Kley R, Grehl T, Husing A, Jager M, Muller K, Schroder R, Mortier W, Fabian K, et al: **Effect of high-dose creatine therapy on symptoms of exercise intolerance in McArdle disease: double-blind, placebo-controlled crossover study.** *Arch Neurol* 2002, **59**:97-101.

Table 1. Patients' demographic characteristics and drug regime.

Patient	Sex	Age	Tanner Stage	IPAQ	Disease duration (years)	Current (mg/d)/cumulative dose of prednisone (g)	Current use of other immunosuppressant drugs	Current use of antimalarial drugs	SLEDAI-2K	SLICC/ACR
1	M	14	G2P2	Moderate	4	0/26	-	HCLQ	0	3
2	M	16	G4P5	High	5	0/**	-	HCLQ	4	0
3	F	14	B3P4	Low	2	10/18.6	AZA, MMF	HCLQ	4	0
4	F	13	B3P3	Moderate	3	0/20.5	AZA	HCLQ	2	0
5	F	18	B5P5	Low	4	0/23.2	MMF	HCLQ	2	2
6	M	17	G4P5	Low	11	5/17.4	MMF	-	6	0
7	F	13	B3P4	Low	0	15/1.8	-	HCLQ	2	0
8	M	14	G4P4	Low	4	0/12.1	-	HCLQ	0	0
9	F	17	B3P4	Low	9	0/25.2	AZA	HCLQ	4	0
10	F	17	B4P5	Low	2	0/2.8	AZA	HCLQ	2	0
11	F	13	B3P4	Moderate	2	5/12.9	AZA; MTX	HCLQ	4	0
12	F	13	B3P4	Moderate	2	5/4.3	-	HCLQ	4	0
13	F	15	B2P2	Low	3	2.5/34.7	MMF	HCLQ	4	1
14	F	10	B1P2	Low	6	0/17.4	AZA	HCLQ	0	0
15	F	18	B3P4	Moderate	6	7.5/14.0	AZA	HCLQ	4	0
Mean		15			4	3/16.5			3	0
SD		2			3	4			2	0,1
					3	5/9.5			2	1

Abbreviations: G = genital; P = pubic hair; B = breast; IPAQ= International Physical Activity Questionnaire; HCLQ = hydroxychloroquine; MTX = methotrexate; AZA = azathioprine; MMF = mycophenolate mofetil; SLEDAI-2K = Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index; SLICC/ACR = Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR Damage Index.

Table 2. Food intake assessment.

Variable	Creatine		Placebo	
	Pre	Post	Pre	Post
Protein(g)	14.0 ± 3.4	13.2 ± 2.1	15.6 ± 3.6	16.0 ± 5.0
Carbohydrates (g)	54.8 ± 5.3	58.4 ± 9.6	53.3 ± 8.2	54.5 ± 6.9
Lipids (g)	32.1 ± 7.6	28.3 ± 8.9	31.1 ± 8.5	29.4 ± 6.7
Total Energy (Kcal)	1913 ± 505	1855 ± 543	1908 ± 628	1973 ± 712
Creatine (g)	1.3 ± 0.7	1.6 ± 0.8	1.4 ± 0.9	1.4 ± 0.9

Data are expressed as means ± SD. No significant differences were noted within (i.e., time effects) or between conditions (i.e., main effect for treatment).

Table 3. Muscle function and aerobic conditioning.

Variable	Placebo				Creatine				Creatine vs. Placebo		
	Pre	Post	Delta	ES	Pre	Post	Delta	ES	Dif. Delta	95% IC	p
1-RM leg press (kg) $\mathfrak{J}$	88 $\pm$ 36	94 $\pm$ 36	5 $\pm$ 14	0.15	92 $\pm$ 42	99 $\pm$ 42	6 $\pm$ 6	0.15	1	-7 to 9	0.83
1-RM bench press (kg)	15 $\pm$ 4	15 $\pm$ 4	0 $\pm$ 1	0.00	15 $\pm$ 4	16 $\pm$ 4	1 $\pm$ 4	0.28	1	-3 to 1	0.61
Handgrip (kg)	21 $\pm$ 8	21 $\pm$ 7	-0.2 $\pm$ 1.4	-0.03	21 $\pm$ 9	21 $\pm$ 9	0.1 $\pm$ 1.6	0.01	0.28	-1 to 1	0.82
Timed-stands (reps) Φ	16 $\pm$ 2	16 $\pm$ 3	0.50 $\pm$ 1.87	0.20	16 $\pm$ 2	17 $\pm$ 3	1.07 $\pm$ 1.33	0.41	0.57	-2 to 1	0.66
Timed-up-and-go (s)	6.21 $\pm$ 1.79	6.01 $\pm$ 1.53	-0.20 $\pm$ 0.60	-0.11	5.88 $\pm$ 1.12	5.75 $\pm$ 1.22	-0.14 $\pm$ 0.28	-0.12	0.06	-0.4 to 0.3	0.71
VO₂ at VAT (mL/kg/min)	16.7 $\pm$ 3.3	16.6 $\pm$ 4.1	-0.09 $\pm$ 1.9	-0.03	16.4 $\pm$ 2.9	15.8 $\pm$ 3.9	-0.58 $\pm$ 3.0	-0.21	-0.49	-1.4 to 2.4	0.67
VO₂ at RCP (mL/kg/min)	26.5 $\pm$ 5.5	26.6 $\pm$ 6.5	0.11 $\pm$ 3.6	0.02	25.8 $\pm$ 6.3	27.2 $\pm$ 9.0	1.40 $\pm$ 4.6	0.22	1.29	-4.3 to 1.8	0.37
VO₂ max (mL/kg/min)	31.8 $\pm$ 6.1	32.5 $\pm$ 6.7	0.63 $\pm$ 2.8	0.11	32.6 $\pm$ 4.7	32.0 $\pm$ 6.0	-0.56 $\pm$ 3.8	-0.13	-1.19	-1.3 to 3.7	0.41
Time to VAT (s)	371 $\pm$ 96	369 $\pm$ 113	-1.43 $\pm$ 69.5	-0.01	364 $\pm$ 111	354 $\pm$ 113	0.00 $\pm$ 69.6	-0.09	1.43	-53 to 51	0.88
Time to RCP (s)	611 $\pm$ 122	626 $\pm$ 117	15.0 $\pm$ 93.9	0.12	613 $\pm$ 130	611 $\pm$ 123	-2 $\pm$ 59	-0.02	-17	-42 to 76	0.56
Time-to-exhaustion (s)	754 $\pm$ 137	771 $\pm$ 127	17.14 $\pm$ 48.1	0.13	784 $\pm$ 116	765 $\pm$ 120	-19.29 $\pm$ 62.9	-0.17	-36.43	-5 to 78	0.09

Data expressed as mean $\pm$ SD, effect size (ES), difference of delta, estimated mean of differences (95% CI), and level of significance for interaction (p) between creatine and placebo (tested by mixed models for repeated measures). Symbols represent main time effects ($\mathfrak{J}$ p= 0.005; Φ p =0.02). Abbreviations: Dif. Delta = difference between delta scores; reps = repetitions; VAT = ventilatory anaerobic threshold; RCP = respiratory compensation point; VO₂ = oxygen consumption; VO₂max = maximal oxygen consumption.

Table 4. Anthropometric data, body composition, bone mineral density, and serum bone markers.

Variable	Placebo				Creatine				Creatine vs. Placebo		
	Pre	Post	Delta	ES	Pre	Post	Delta	ES	Dif. Delta	95% IC	p
Body mass (kg) ⚖	52.9 ± 14.9	54.1 ± 15.7	1.2 ± 2.3	0.08	53.4 ± 14.7	54.2 ± 14.7	0.8 ± 1.8	0.05	-0.4	-1.1 to 2.0	0.57
Height (cm) ϕ	154.6 ± 13.2	155.7 ± 12.7	1.1 ± 1.9	0.08	155.0 ± 13.3	155.6 ± 12.7	0.6 ± 1.1	0.05	-0.5	-0.6 to 1.7	0.34
Lean mass (kg) ♂	34.6 ± 9.3	35.4 ± 9.3	0.8 ± 1.3	0.09	35.1 ± 9.1	35.7 ± 9.3	0.6 ± 1.1	0.07	-0.2	-0.7 to 1.1	0.61
Fat mass (kg)	16.6 ± 7.2	17.2 ± 7.6	0.5 ± 1.5	0.07	16.6 ± 6.4	16.9 ± 6.7	0.4 ± 13.2	0.06	-0.1	-0.9 to 1.2	0.75
Body fat (%)	31.0 ± 7.2	31.0 ± 7.2	0.0 ± 1.8	0.00	30.7 ± 6.0	30.9 ± 6.7	0.2 ± 2.0	0.04	0.2	-1.6 to 1.2	0.73
BMC Total (g) £	1520 ± 367	1534 ± 370	13 ± 33	0.04	1518 ± 399	1540 ± 374	22 ± 46	0.06	9.00	-39 to 21	0.55
BMAD LI-L4 (g/cm²) #	0.77 ± 0.10	0.79 ± 0.09	0.02 ± 0.02	0.20	0.78 ± 0.08	0.80 ± 0.07	0.02 ± 0.02	0.25	0.00	-0.01 to 0.01	0.15
BMAD TF (g/cm³)	0.80 ± 0.14	0.79 ± 0.12	-0.01 ± 0.03	-0.07	0.81 ± 0.13	0.80 ± 0.14	0.00 ± 0.04	-0.08	0.01	-0.04 to 0.02	0.89
BMAD WB (g/cm²) ¥	0.90 ± 0.08	0.91 ± 0.08	0.01 ± 0.01	0.13	0.90 ± 0.08	0.91 ± 0.08	0.01 ± 0.01	0.13	0.00	-0.01 to 0.01	0.26
CTX (ng/mL)	0.94 ± 0.58	1.06 ± 0.73	0.12 ± 0.25	0.21	1.10 ± 0.62	1.06 ± 0.72	-0.04 ± 0.40	-0.06	-0.16	-0.09 to 0.41	0.20
P1NP (ng/mL) §	389.5 ± 387.1	366.8 ± 406.0	-22.7 ± 97.0	-0.06	429.0 ± 410.2	326.3 ± 330.3	-102.6 ± 161.9	-0.25	-79.95	-19.9 to 179.8	0.11

Data expressed as mean ± SD, effect size (ES), difference of delta, estimated mean of differences (95% CI), and level of significance for interaction (p) between creatine and placebo (tested by mixed models for repeated measures). Symbols represent main time effects (⚖ p= 0.0145; ϕ p= 0.0043; ♂ p= 0.0031; £ p= 0.02; # p <.0001; ¥ p = 0.02; § p = 0.01). Abbreviations: Dif. Delta = difference between delta scores BMC = bone mineral content; BMAD = bone apparent density; L1-L4 = lumbar spine between L1 to L4; TF = total femur; WB = Whole body; CTX = Type I collagen C-telopeptide; P1NP = Procollagen type I N-propeptide.

Table 5. Functional capacity, health-related quality of life and global assessment parameters.

Variable (range)	Placebo				Creatine				Creatine vs. Placebo		
	Pré	Post	Delta	ES	Pre	Post	Delta	ES	Dif. Delta	95% IC	P
PedsQL patient (0-100)	66.38 ± 14.10	74.71 ± 19.06	8.33 ± 10.72	0.59	69.49 ± 19.58	77.68 ± 15.92	8.19 ± 16.13	0.42	-0.14	-10.10 to 10.38	0.57
PedsQL parents (0-100)	68.91 ± 19.31	71.45 ± 22.06	2.54 ± 11.08	0.13	66.67 ± 24.83	71.23 ± 22.43	10.94 ± 24.52	0.18	8.4	-22.63 to 5.83	0.43
C-HAQ (0-3)	0.35 ± 0.61	0.34 ± 0.60	-0.01 ± 0.22	-0.02	0.50 ± 0.61	0.40 ± 0.64	-0.10 ± 0.30	-0.16	-0.09	-0.11 to 0.29	0.76
VAS physician (0-10)	0.92 ± 0.90	0.83 ± 1.53	-0.08 ± 1.56	-0.10	0.50 ± 0.67	0.75 ± 0.75	0.25 ± 0.62	0.37	0.33	-1.22 to 0.56	0.10
VAS parents (0-10)	1.33 ± 1.29	1.33 ± 1.29	0.00 ± 1.31	0.00	1.13 ± 1.73	1.00 ± 1.73	-0.13 ± 0.74	-0.08	-0.13	-0.67 to 0.93	0.85
VAS patient (0-10)	1.33 ± 1.40	1.40 ± 1.68	0.07 ± 0.80	0.05	1.00 ± 1.20	1.20 ± 1.15	0.20 ± 1.21	0.17	0.13	-0.90 to 0.64	0.96

Data expressed as mean ± SD, effect size (ES), difference of delta, estimated mean of differences (95% CI), and level of significance for interaction (p) between creatine and placebo (tested by Mann-Whitney U tests). Abbreviations: Dif. Delta = difference between delta scores; PedsQL= pediatric quality of life inventory; C-HAQ = childhood health assessment questionnaire; VAS = visual analogue scale.

Table 6. Laboratory parameters.

Variable	Placebo				Creatine				Creatine vs. Placebo		
	Pré	Post	Delta	ES	Pre	Post	Delta	ES	Dif. Delta	95% IC	P
CPK (U/L)	109 ± 75	410 ± 928	301 ± 912	4.04	116 ± 51	119 ± 52	3 ± 41	0.06	-298.5	-184 to 781	0.30
LDH (U/L)	372 ± 143	415 ± 171	44 ± 129	0.31	352 ± 111	339 ± 110	-12 ± 153	-0.11	-56.2	-50 to 162	0.35
Aldolase (U/L)	3.8 ± 1.3	6.6 ± 8.8	2.8 ± 8.9	2.15	3.8 ± 1.1	3.7 ± 0.6	-0.1 ± 1.0	-0.09	-2.9	-1.8 to 7.6	0.25
CRP (mg/L)	5.7 ± 11.3	3.3 ± 5.0	-2.4 ± 6.6	-0.21	2.6 ± 4.8	3.5 ± 5.7	0.9 ± 2.0	0.19	3.3	-6.9 to 0.3	0.08
AST (U/L)	21.9 ± 6.9	31.5 ± 20.5	8.8 ± 16.9	1.39	22.3 ± 7.2	22.0 ± 5.4	-1.9 ± 5.1	-0.04	-10.7	1.4 to 20.0	0.06
ALT (U/L)	14.8 ± 8.3	20.3 ± 12.7	5.7 ± 9.1	0.66	14.2 ± 5.9	15.5 ± 5.8	-0.2 ± 4.0	0.22	-5.9	0.6 to 11.1	0.08
ESR (mm/Hg)	13.4 ± 9.7	11.3 ± 9.5	-0.7 ± 3.2	-0.22	9.0 ± 4.6	9.6 ± 6.1	2.7 ± 7.7	0.13	3.4	-7.9 to 1.0	0.44
Serum potassium (mEq/L)	4.2 ± 0.3	4.3 ± 0.4	0.1 ± 0.3	0.29	4.3 ± 0.3	4.2 ± 0.4	-0.1 ± 0.3	-0.30	-0.2	-0.0 to 0.4	0.13
Serum sodium (mEq/L)	141.0 ± 2.3	140.5 ± 2.5	-0.5 ± 2.8	-0.20	140.5 ± 2.7	140.5 ± 3.4	0.1 ± 3.2	0.03	0.5	-2.8 to 1.7	0.69
Urinary urea (mg/24h)	15.2 ± 6.7	13.5 ± 5.2	-1.7 ± 5.6	-0.25	12.5 ± 5.5	13.2 ± 6.5	0.7 ± 3.9	0.12	2.3	-6.0 to 1.3	0.80
Serum urea (mg/dL)	21.8 ± 5.8	20.5 ± 5.1	-1.3 ± 5.7	-0.22	22.9 ± 6.4	21.1 ± 6.7	-1.8 ± 6.4	-0.28	-0.5	-4.0 to 5.0	0.67
Urinary creatinine (g/24h)	1.0 ± 0.4	1.0 ± 0.5	0.1 ± 0.4	0.17	0.8 ± 0.4	1.0 ± 0.5	0.1 ± 0.2	3.25	0.1	-0.3 to 0.1	0.39
Serum creatinine (mg/dL)	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.0 ± 0.1	0.00	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.0 ± 0.1	0.22	0.0	-0.1 to 0.0	0.37
Proteinuria (g/24h)	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.0 ± 0.2	-0.10	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.1	0.17	0.0	-0.2 to 0.1	0.63
Albuminuria (mg/L)	8.2 ± 5.6	9.7 ± 7.3	-0.4 ± 8.6	0.27	10.4 ± 10.2	5.5 ± 3.2	-2.8 ± 6.8	-0.48	-2.4	-3.4 to 8.2	0.23
⁵¹ Cr-EDTA (mL/min/1.73m ²)	106 ± 21	108 ± 17	3 ± 22	0.11	112 ± 14	120 ± 19	8 ± 16	0.59	5	-20 to 9	0.43

Data expressed as mean ± SD, effect size (ES), difference of delta, estimated mean of differences (95% CI), and level of significance for interaction (p between creatine and placebo (tested by mixed models for repeated measures). Abbreviations: Dif. Delta = difference between delta scores; CPK = creatine phosphokinase; LDH = lactate dehydrogenase; CRP = C-reactive protein; AST = aspartate aminotransferase; ALT = alanine aminotransferase; ESR = erythrocyte sedimentation rate.

FIGURES LEGEND

Figure 1. Flow chart of patients.

Figure 2. A) Individual data and B) delta scores for intramuscular phosphorylcreatine content

Figure 1

Figure 2