JULIANE ALINE PAUPITZ

**Avaliação da microarquitetura e resistência óssea
por tomografia computadorizada quantitativa
periférica de alta resolução (HR-pQCT) em
pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de
início juvenil**

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

Programa de Ciências Médicas

Área de concentração: Processos Imunes e
Infecciosos

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosa Maria Rodrigues
Pereira

**SÃO PAULO
2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Paupitz, Juliane Aline

Avaliação da microarquitetura e resistência óssea por tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil / Juliane Aline Paupitz. -- São Paulo, 2015.

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

Programa de Ciências Médicas. Área de concentração: Processos Imunes e Infecciosos.

Orientadora: Rosa Maria Rodrigues Pereira.

Descritores: 1.Tomografia computadorizada por raios X 2.Lúpus eritematoso sistêmico 3.Densidade óssea 4.Adolescente 5.Adulto jovem 6.Fraturas ósseas 7.Osso e ossos

USP/FM/DBD-503/15

O correr da vida embrulha tudo.

A vida é assim: esquentada e esfria,

aperta e daí afrouxa,

sossega e depois desinquieta.

O que ela quer da gente é coragem.

(Grande Sertão Veredas - João Guimarães Rosa)

À minha família, meu porto seguro.

Em especial, meus pais, Rolf e Marli.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira, por toda disposição e disponibilidade para efetuar esse trabalho e concretizar este sonho. Por todos inúmeros ensinamentos pessoais, médicos, literários e de vida. Muito obrigada!

À Prof. Dra. Eloísa Bonfá, pela oportunidade da realização desta tese junto a Disciplina de Reumatologia.

À minha amiga, Glauce Leão Lima, que me ajudou muito nesta caminhada para realização deste trabalho, pelo companheirismo na jornada.

À Liliam Takayama, Valéria Caparbo, Jackeline Couto, Henrique Fuller, assim como todos os membros do Laboratório de Metabolismo Ósseo pela ajuda na realização deste trabalho e durante todo este processo de aprendizado que é a realização de uma tese.

Às secretárias da Disciplina de Reumatologia, em especial Mayra e Cláudia, pela ajuda de pronto.

Ao Rogério Ruscitto, pelo auxílio na análise estatística.

Aos membros da banca examinadora de qualificação, Profas. Dras. Sandra Gofinet Pasoto, Luciana Parente Costa Seguro e Maria Teresa Sande Lemos Ramos Ascensão Terreri, pelas valiosas contribuições.

Ao Prof. JM Burnham, do Departamento de Reumatologia Pediátrica do Children's Hospital of Philadelphia, Universidade da Philadelphia, USA pela revisão do artigo submetido à publicação.

Ao meu irmão e cunhada, Carlos e Dayanne, por estarem sempre junto comigo e por presentear nossa família com nosso maior bem hoje: Fernanda e Ricardo, meus sobrinhos e afilhados.

Aos meus amigos e colegas de trabalho Gláucio Ricardo Werner de Castro, Sonia Cristina de Magalhães Souza Fialho, Giovana Gomes Ribeiro, Fabrício de Souza Neves, Monique Kowalski Schmitz, Fernanda Vicente da Costa Moresco e em especial, Ivânio Alves Pereira e Adriana Fontes Zimmermann, ex-professores e exemplos, que muito me ajudaram e incentivaram para que esta tese fosse concluída. Muito obrigada a todos!

Às minhas eternas amigas da Medicina 99.1/UFSC, Sônia Regina Angélica Gasparoni Wesley, Luísa Guedes de Oliveira, Karine Furlanetto, Débora Cadore de Farias e Mônica Lazarotto pelo estímulo constante e compreensão em momentos de ausência.

Às pacientes desta pesquisa, que colaboraram na elaboração desta tese.

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram com a realização desta tese e que de alguma forma caminharam comigo nesta jornada de 16 anos de formação médica. A todos, muito obrigada!

CONFLITO DE INTERESSE

Declaro não haver conflitos de interesse na elaboração desta tese.

FINANCIAMENTO

Este estudo recebeu financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ #472754/2013-0).

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação.
Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	5
3	MÉTODOS	7
3.1	Pacientes e Controles Saudáveis.....	8
3.2	Dados Demográficos, Antropométricos e Clínicos	9
3.3	Densidade Mineral Óssea areal (aDMO) e Avaliação de Fratura Vertebral (VFA).....	10
3.4	Densidade Mineral Óssea Volumétrica (vDMO) e Microarquietura Óssea	12
3.5	Análise do Elemento Finito (FEA).....	17
3.6	Avaliação Laboratorial dos Marcadores Bioquímicos do Metabolismo Ósseo.....	19
3.7	Avaliação Laboratorial dos Hormônios Sexuais Femininos.....	20
3.8	Análise Estatística	20
4	RESULTADOS.....	22
4.1	Pacientes com LESJ <i>versus</i> Controles Saudáveis	23
4.2	Pacientes Com LESJ Com Fratura Vertebral <i>versus</i> Sem Fratura Vertebral	27
4.3	Parâmetros da HR-pQCT	29
5	DISCUSSÃO	35
6	CONCLUSÕES	42
7	ANEXOS	44
8	REFERÊNCIAS.....	58
	APÊNDICES	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

25OHD	- 25-hidroxivitamina D
ACR	- Colégio Americano de Reumatologia (<i>American College Rheumatology</i>)
aDMO	- Densidade mineral óssea areal
BV/TV	- Fração do volume ósseo pelo volume trabecular
CAPPesq	- Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
Ct.DMO	- Densidade mineral óssea cortical
Ct.Th	- Espessura cortical
CTX	- Telopectídeo C-terminal do colágeno tipo 1
DP	- Desvio padrão
DXA	- Absorciometria por dupla emissão de raios-X
E	- Estradiol
E.app	- Módulo aparente (<i>Apparent Modulus</i>)
F.ult	- Estimativa da carga máxima suportada (<i>Estimated Failure Load</i>)
FE	- Elemento finito (<i>Finite Element</i>)
FEA	- Análise do elemento finito (<i>Finite Element Analysis</i>)
FMUSP	- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
FSH	- Hormônio folículo estimulante
FV	- Fratura vertebral
GC	- Glicocorticoide
HA	- Hidroxiapatita
HC	- Hospital das Clínicas
HCL	- Hidroxicloroquina
HR-pQCT	- Tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (<i>High resolution peripheral quantitative computed tomography</i>)
IMC	- Índice de massa corpórea

iPTH	- Paratormônio intacto
IQR	- Intervalo interquartil
LES	- Lúpus eritematoso sistêmico
LESJ	- Lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil
LH	- Hormônio luteinizante
MBMO	- Marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo (<i>Bone turnover markers</i>)
OP	- Osteoporose
<i>p</i>	- Significância estatística
P1NP	- Propeptídeo N-terminal do colágeno tipo 1
S	- Rigidez do tecido (<i>Stiffness</i>)
SLEDAI-2K	- Índice de atividade de doença (<i>Systemic lupus erythematosus disease activity index</i>)
SLICC/ACR-DI	- Índice de dano do Colégio Americano de Reumatologia [<i>Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index (SDI)</i>]
SOST	- Esclerostina
Tb.1/N.SD	- Heterogeneidade das trabéculas
Tb.DMO	- Densidade mineral óssea trabecular
Tb.N	- Número das trabéculas
Tb.Sp	- Separação trabecular
Tb.Th	- Espessura trabecular
Tt.DMO	- Densidade mineral óssea total
vDMO	- Densidade mineral óssea volumétrica
VFA	- Avaliação de fratura vertebral (<i>Vertebral fracture assessment</i>)
VOI	- Volume de interesse (<i>Volume of interest</i>)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fluxograma de Pacientes e Controles	9
Figura 2 -	Avaliação da fratura vertebral através do método semiquantitativo de Genant	11
Figura 3 -	Aparelho de tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT).....	12
Figura 4 -	Técnica de conversão do voxel.....	13
Figura 5 -	(A) Imobilização do antebraço para obtenção das imagens do rádio distal e (B) Imobilização da perna para obtenção das imagens da tíbia	13
Figura 6 -	(A) Planos padronizados para HR-pQCT para rádio distal e (B) Planos padronizados para HR-pQCT para tíbia.....	13
Figura 7 -	Imagem seccional do antebraço, com o contorno do perióstio do rádio em destaque.....	14
Figura 8 -	Coeficiente de Poisson (tração/deformidade). Rigidez. Módulo de Young	18
Figura 9 -	Exemplo de paciente com fratura vertebral	26
Figura 10 -	Análise densitométrica e estrutural após reconstrução 3D do rádio distal, por HR-pQCT	33
Figura 11 -	Análise densitométrica e estrutural após reconstrução 3D da tíbia, por HR-pQCT	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos, antropométricos e clínicos de pacientes com LESJ e controles saudáveis.....	23
Tabela 2 - Descrição da localização, tipo e grau das fraturas vertebrais presentes nas pacientes avaliadas com lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESJ), de acordo com o método semiquantitativo de Genant	26
Tabela 3 - Dados demográficos, antropométricos e clínicos de pacientes com LESJ com e sem fratura vertebral (FV).....	28
Tabela 4 - Dados de densidade volumétrica, microarquitetura e resistência óssea no rádio distal e tíbia por HR-pQCT em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESJ) com e sem fratura vertebral (FV) e controles saudáveis.....	31

RESUMO

Paupitz JA. *Avaliação da microarquitetura e resistência óssea por tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

Objetivo: Avaliar por HR-pQCT a densidade mineral óssea volumétrica (vDMO), a microarquitetura e as características biomecânicas do rádio distal e tíbia, assim como os marcadores laboratoriais do metabolismo ósseo em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil (LESJ) comparados com controles saudáveis e determinar se este método permite identificar parâmetros que diferenciem pacientes com e sem fraturas vertebrais (FV). **Métodos:** Foram avaliadas 56 pacientes e comparadas a 56 controles saudáveis pareados por sexo, idade e estágio de Tanner. A HR-pQCT foi realizada no rádio distal e na tíbia. Marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo foram avaliados: pró-peptídeo amino-terminal do colágeno tipo I (P1NP), telo-peptídeo carboxi-terminal do colágeno tipo I (CTX), paratormônio intacto (iPTH), esclerostina (SOST) e 25-hidroxivitamina D (25OHD). Fratura vertebral foi avaliada por VFA-DXA (método semiquantitativo de Genant). **Resultados:** Redução na densidade volumétrica e na resistência óssea, assim como comprometimento da microarquitetura óssea tanto cortical como trabecular foram encontrados em pacientes com LESJ comparados com controles saudáveis, principalmente no rádio distal ($p < 0.05$). Além disso, pacientes com FV apresentavam valores significativamente menores nos parâmetros trabeculares, somente no rádio distal, comparados com pacientes sem FV (Total.DMO: $229,45 \pm 42,09$ vs $275,93 \pm 56,87$ mg/cm³; $p = 0,034$; Trabecular.DMO [Tb.DMO]: $136,96 \pm 30,84$ vs $163,17 \pm 30,45$ mg/cm³; $p = 0,034$; BV/TV: $0,114 \pm 0,026$ vs $0,136 \pm 0,029$; $p = 0,034$) e também menores valores em relação a propriedades

biomecânicas (Módulo Aparente: 1236 ± 334 vs 1523 ± 367 N/mm²; $p = 0,039$). Pacientes com fratura vertebral apresentaram maiores índices de SLICC/ACR-DI ($0,67 \pm 0,78$ vs $0,11 \pm 0,32$; $p = 0,002$). Parâmetros laboratoriais do metabolismo ósseo foram semelhantes entre os grupos avaliados. Análise de regressão logística incluindo parâmetros que foram significativos na análise univariada revelaram que Tb.DMO (OR:0,98; 95%IC 0,95-0,99; $p = 0,039$) e SLICC/ACR-DI (OR:7,37; 95% IC 1,75-30,97; $p = 0,006$) foram fatores de risco independentes para fratura vertebral.

Conclusões: Este é o primeiro estudo demonstrando que pacientes com lúpus de início juvenil apresentam alteração na microarquitetura e resistência óssea, particularmente no rádio distal. Além disso, nossos resultados demonstram que as fraturas vertebrais estão associadas a um comprometimento trabecular e também evidenciamos a associação do dano da doença nesta condição de fragilidade óssea.

Descritores: Tomografia computadorizada por raios X. Lúpus eritematoso sistêmico. Densidade óssea. Adolescente. Adulto jovem. Fraturas ósseas. Osso e ossos.

ABSTRACT

Paupitz JA. *Bone impairment assessed using high resolution peripheral quantitative computed tomography (HR-pQCT) in juvenile-onset systemic lupus erythematosus* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2015.

Objective: The aim of this study was to investigate using HR-pQCT the volumetric bone mineral density (vBMD), microarchitecture and biomechanical features at distal radius and tibia, and laboratory bone markers in JoSLE patients compared to controls and determine whether this method can discriminate JoSLE patients with or without VF. **Methods:** We compared 56 female JoSLE patients with age- and Tanner- matched healthy controls. HR-pQCT was performed at distal radius and at tibia. Serum levels of amino-terminal pro-peptide of type I collagen (P1NP), C-terminal telopeptide of type I collagen (CTX), intact parathormone (iPTH), sclerostin (SOST) and 25 hydroxivitamin D (25OHD) were evaluated. Vertebral fractures (VF) were analyzed by VFA-DXA (Genant's method). **Results:** Reduced parameters of density and strength as well as microarchitecture alteration of cortical and trabecular bone were observed in JoSLE patients compared to controls, mainly at distal radius ($p < 0.05$). In addition, patients with VF had a significant decrease in trabecular bone parameters solely at distal radius (Total.BMD: 229.45 ± 42.09 vs. 275.93 ± 56.87 mg/cm³; $p = 0.034$; Trabecular.BMD[Tb.BMD]: 136.96 ± 30.84 vs. 163.17 ± 30.45 mg/cm³; $p = 0.034$; BV/TV: 0.114 ± 0.026 vs. 0.136 ± 0.29 ; $p = 0.034$; Apparent modulus: $1,236 \pm 334$ vs. $1,523 \pm 367$ N/mm²; $p = 0.039$) and higher score disease damage (SLICC/ACR-DI: 0.67 ± 0.78 vs. 0.11 ± 0.32 ; $p = 0.002$). Bone metabolism markers were alike in all groups evaluated. Logistic regression analysis including parameters that were significant at univariate analysis reveal that Tb.BMD (OR:0.98, 95%CI 0.95-0.99, $p = 0.039$) and

SLICC/ACR-DI (OR:7.37, 95%CI 1.75-30.97, p=0.006) were independent risk factors for vertebral fractures. **Conclusion:** In conclusion, this is the first demonstration of bone microstructure and strength deficit in JoSLE patients, particularly at distal radius. Furthermore, our results show that VF are associated with trabecular radius compromise and emphasizes the potential detrimental effect of disease damage in this condition.

Descriptors: Tomography, X-ray computed. Systemic lupus erythematosus. Bone density. Adolescent. Young adult. Fractures. Bone and Bones.

1 INTRODUÇÃO

Pacientes com lúpus estão propensos a apresentar fraturas por fragilidade. A inflamação, diminuição da atividade física, atraso na menarca, menopausa prematura, pouca exposição solar e uso de medicamentos como, por exemplo, os glicocorticoides são fatores que podem afetar a saúde óssea neste grupo de pacientes (Lee e Ramsey-Goldman, 2005; Rouster-Stevens e Klein-Gitelman, 2005).

A osteoporose é uma doença crônica caracterizada por perda da massa óssea e também por um comprometimento da microarquitetura óssea. O diagnóstico atualmente é baseado na avaliação da densidade mineral óssea areal (aDMO) por absorciometria por dupla emissão de raios-X (DXA). A avaliação da aDMO é um bom preditor do risco de fraturas (Kanis, 2002), entretanto seu uso é limitado por sua medida ser uma avaliação bidimensional, a qual é afetada pelo tamanho e posição do indivíduo (Bolotin, 2007), além de não conseguir distinguir os compartimentos cortical e trabecular do osso. Além disso, estudos epidemiológicos indicam que em termos absolutos, a maioria das fraturas ocorrem em mulheres classificadas como osteopenia de acordo com o critério densitométrico (Stone *et al.*, 2003), destacando uma importante limitação deste método na avaliação do risco de fraturas. A avaliação dos parâmetros estruturais ósseos assim como a resistência óssea são

informações fundamentais na avaliação da progressão da doença, efeitos do tratamento e avaliação do risco de fraturas.

Em crianças e adolescentes, a redução da massa óssea é particularmente importante devido ao desenvolvimento e maturação do esqueleto e, conseqüentemente, o fato de não atingir o pico de massa óssea ideal para cada indivíduo, pode levar a um aumento no risco de fraturas osteoporóticas na idade adulta (Hernandez *et al.*, 2003; Burnham e Leonard, 2004).

A tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (*High Resolution peripheral Quantitative Computed Tomography* [HR-pQCT]) é um método novo, não invasivo atualmente disponível para avaliação da microarquitetura e resistência óssea. Esta nova técnica de imagem nos permite avaliar a densidade mineral óssea volumétrica (vDMO), assim como avaliar a estrutura óssea trabecular e cortical em sítios periféricos do esqueleto (rádio distal e tíbia) permitindo uma aquisição de imagem com tamanho de *voxel* isotrópico de 82 µm. Além disso, através da análise do elemento finito por *software* específico das imagens obtidas da HR-pQCT pode-se prever propriedades biomecânicas do osso (resistência óssea) (Boutroy *et al.*, 2005). Esta metodologia para avaliação óssea é particularmente importante em crianças e adolescentes uma vez que a densidade volumétrica é mais precisa que a densidade areal obtida pela absorciometria por dupla emissão de raios-X (DXA) (Santiago *et al.*, 2008). Em pacientes com lúpus, a análise da microarquitetura óssea através desta nova técnica pode nos fornecer informações relevantes a fim de melhor

entender o comprometimento ósseo trabecular e cortical devido a atraso na menarca e uso de glicocorticoides. Entretanto, não há estudos disponíveis na literatura que avaliaram o comprometimento ósseo, por HR-pQCT, em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil (LESJ).

Deste modo, o objetivo deste estudo caso controle foi avaliar as alterações da densidade mineral óssea volumétrica, microarquitetura e resistência óssea obtidas por HR-pQCT, e marcadores laboratoriais do metabolismo ósseo em pacientes com LESJ comparados com controles saudáveis, pareados para sexo, idade e estágio de Tanner. Também foram avaliados pacientes com e sem fratura vertebral para os mesmos parâmetros ósseos e bioquímicos.

2 OBJETIVOS

a) Avaliar parâmetros de microarquitetura, densidade volumétrica e resistência óssea obtidos por HR-pQCT e parâmetros bioquímicos do metabolismo ósseo em adolescentes/adultos jovens do sexo feminino com diagnóstico de LESJ comparando com controles saudáveis pareados por idade, sexo e estágio de Tanner.

b) Comparar pacientes com LESJ com e sem fratura vertebral em relação a parâmetros de microarquitetura, densidade volumétrica e resistência óssea obtidos por HR-pQCT, parâmetros bioquímicos do metabolismo ósseo e fatores relacionados à doença.

3 MÉTODOS

3.1 Pacientes e Controles Saudáveis

Foram avaliadas todas as pacientes do sexo feminino com diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil (LESJ), com idade de 10 a 25 anos, acompanhadas regularmente no Ambulatório de Doenças Reumatológicas Iniciadas na Infância do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, no período de abril de 2012 a dezembro de 2013. Todas pacientes preenchiam os critérios de classificação para LES propostos pelo Colégio Americano de Reumatologia (ACR) revisados em 1997 (Hochberg, 1997). Foram excluídas as pacientes: (a) com outra doença que pudesse afetar o metabolismo ósseo [três pacientes: clearance renal $\leq$ 30mL/min; asma e diabetes tipo 1]; (b) gestantes ou lactantes [oito pacientes]; (c) com uso prévio de bisfosfonatos [três pacientes].

O grupo controle foi constituído de indivíduos saudáveis pareados para sexo, idade e estágio de Tanner, com algum grau de parentesco com os pacientes (primos ou irmãos), a fim de diminuir as diferenças genéticas e/ou ambientais entre os grupos. Todos os indivíduos convidados concordaram em participar do estudo (100% taxa resposta) (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma de Pacientes e Controles

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (protocolo de pesquisa 9241/13) e todos os participantes e/ou responsáveis legais leram, concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexos A e B).

3.2 Dados Demográficos, Antropométricos e Clínicos

Dados como idade, peso, altura, idade da menarca, estágio de Tanner (Duke *et al.*, 1980), tabagismo, atividade física (Farias Junior *et al.*, 2012), história prévia de fraturas e história familiar de osteoporose e/ou fraturas foram coletados através de questionário específico (Anexo C) durante a entrevista no dia dos exames (HR-pQCT e DXA). O índice de massa corporal (IMC) foi calculado para todos os participantes. Dados clínicos tais como duração de doença, tratamento com cloroquina/hidroxicloroquina, uso

de imunossupressores (metotrexato, micofenolato de mofetil, azatioprina, ciclosporina e ciclofosfamida) ou uso de glicocorticoides (dose diária atual, dose cumulativa no último ano e maior dose diária utilizada) foram coletados através da revisão de prontuário eletrônico. Atividade de doença foi avaliada pelo Índice de Atividade de Doença do LES 2000 (SLEDAI-2K) e o valor demonstrado foi o índice médio do SLEDAI no último ano (Ibanez *et al.*, 2005) e o Índice de Dano Cumulativo foi avaliado pelo Índice de Dano do Colégio Americano de Reumatologia (SLICC/ACR-DI) (Gladman *et al.*, 1996). Para o cálculo deste índice, o item osteoporose/fratura não foi considerado, afim de avaliarmos os outros fatores de dano de doença não relacionado ao comprometimento ósseo.

3.3 Densidade Mineral Óssea areal (aDMO) e Avaliação de Fratura Vertebral (VFA)

A avaliação da densidade mineral óssea areal da coluna lombar (L1-L4), fêmur total, corpo total sem cabeça e terço distal do rádio e avaliação da fratura vertebral foram analisados por absorciometria por dupla emissão de raios-X (DXA) em todos os participantes (Hologic QDR4500; Hologic, Bedford, MA).

As imagens da coluna torácica e lombar (T4-L4) obtidas por DXA foram analisadas de acordo com o método semiquantitativo de Genant (Genant *et al.*, 1993), utilizado previamente em outros estudos no nosso laboratório (Domiciano *et al.*, 2013; Seguro *et al.*, 2015). Este método identifica e gradua a fratura vertebral, utilizando uma estimativa visual de

perda de altura vertebral em relação à altura da vértebra adjacente normal. A fratura vertebral é definida como uma redução de no mínimo 20% da altura do corpo vertebral. Este método gradua a vértebra numa escala de 0 a III, no qual grau 0 = normal, grau I = 20%-25% de redução de altura vertebral, grau II = 26%-40% de redução de altura vertebral e grau III $\geq 40\%$ de redução de altura vertebral. A perda da altura pode ocorrer num padrão em cunha, bicôncava ou compressão, dependendo se o comprometimento da altura do corpo vertebral for anterior, médio ou posterior, respectivamente (Genant *et al.*, 1993; Siminoski *et al.*, 2012) (Figura 2).

Figura 2 - Avaliação da fratura vertebral através do método semiquantitativo de Genant

3.4 Densidade Mineral Óssea Volumétrica (vDMO) e Microarquitetura Óssea

A vDMO e microarquitetura óssea foram avaliadas utilizando a HR-pQCT (Xtreme CT Scanco Medical AG, Brüttisellen, Switzerland) no rádio distal e tibia (Figura 3). Esta ferramenta utiliza um detector de matriz de duas dimensões, em combinação com um ponto de foco de tubos de raios-X de 0,08 mm, permitindo a obtenção simultânea de 110 secções tomográficas com uma resolução nominal (tamanho do voxel) de 82 μm (Figura 4). O antebraço ou a perna do paciente (Figura 5) ficam imobilizados durante o exame com uma concha de fibra de carbono anatomicamente formada para evitarem artefatos de movimentação, os quais poderiam levar a necessidade de reescaneamento. Inicialmente é feita uma radiografia convencional pelo próprio equipamento. Uma linha de referência é colocada manualmente na placa terminal do rádio distal e tibia (Figura 6).

Figura 3 - Aparelho de tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT)

Figura 4 - Técnica de conversão do voxel. Cada um dos cubos a direita é um voxel com uma elasticidade específica, aqui representado por diferentes tonalidades de cinza [FONTE: Fuller *et al.* (2015)]

Figura 5 - (A) Imobilização do antebraço para obtenção das imagens do rádio distal e (B) Imobilização da perna para obtenção das imagens da tíbia

Figura 6 - (A) Planos padronizados para HR-pQCT para rádio distal. Uma linha de referência é colocada manualmente na placa terminal do rádio. A região avaliada (região de interesse) tem a dimensão de 9,02 mm ao longo do eixo axial do osso, localizado no rádio distal a 9,5 mm proximal à linha de referência e (B) Planos padronizados para HR-pQCT para tíbia. Uma linha de referência é colocada manualmente na placa terminal da tíbia. A região avaliada (região de interesse) tem a dimensão de 9,02 mm ao longo do eixo axial do osso, localizado no rádio distal a 22,5 mm proximal à linha de referência

A região avaliada (região de interesse) tem a dimensão de 9,02 mm ao longo do eixo axial do osso, localizado no rádio distal a 9,5 mm proximal à linha de referência e na tíbia 22,5 mm proximal à linha de referência. A obtenção das imagens demora cerca de três minutos, obtidas por um único operador e com dose de radiação efetiva menor que 3 μ Sv por exame. O aparelho tem as seguintes configurações: corrente do tubo de raios-X de 95 mA, potencial de tubo de raios-X de 60 kVp, uma matriz de 1536x1536. Finalizada a obtenção das imagens, o sistema faz automaticamente uma transformação de dados digitais em imagens seccionais e reconstrução de um modelo em 3D (Kirmani *et al.*, 2009; Burrows *et al.*, 2010; Cheung *et al.*, 2013; Fuller *et al.*, 2015).

A partir das imagens obtidas por tomografia o sistema automaticamente delimita a região óssea a ser analisada (Figura 7). O limiar utilizado para discriminar o osso cortical do trabecular é um terço da densidade cortical aparente. A média da espessura cortical é definida como a média do volume cortical dividido pelo valor da superfície externa óssea.

Figura 7 - Imagem seccional do antebraço, com o contorno do periósteo do rádio em destaque

A densidade mineral óssea trabecular é computada como a média da densidade mineral dentro do volume de interesse trabecular. A fração do volume ósseo trabecular (BV/TV, %) é determinada da densidade mineral óssea volumétrica trabecular (Tb.DMO) assumindo uma densidade óssea completamente mineralizada de 1200 mg HA/cm³. O número de trabéculas (Tb.N, 1/mm) é obtido como o inverso da distância média entre os eixos da estrutura observada. A espessura trabecular (Tb.Th, mm) e a separação das trabéculas (Tb.Sp, mm) são calculadas utilizando métodos semiderivados ($Tb.Th = (BV/TV)/Tb.N$ e $Tb.Sp = (1-BV/TV)/Tb.N$). Através da técnica de transformação de distância também é possível o cálculo da distribuição intra-individual de separação (Tb.Sp.SD, μ m), quantificado pelo desvio padrão da separação, um parâmetro que reflete a heterogeneidade da trama trabecular.

Todas as participantes avaliadas já tinham tido a menarca e apresentavam um estágio de Tanner tardio (≥ 3), deste modo foram seguidas as instruções do fabricante quanto a análise da região de interesse.

Os parâmetros analisados foram:

(A) Parâmetros de densidade volumétrica (g HA/cm³):

- a. Densidade total (Tt.DMO, g HA/cm³) - densidade mineral volumétrica total da região de interesse.
- b. Densidade trabecular (Tb.DMO, g HA/cm³) - densidade mineral volumétrica trabecular.
- c. Densidade cortical (Ct.DMO, g HA/cm³) - densidade mineral volumétrica cortical.

(B) Parâmetros da microestrutura trabecular:

- a. Fração do volume ósseo pelo volume trabecular (BV/TV, %) - relação entre volume ósseo pelo volume de tecido.
- b. Número de trabéculas (Tb.N, mm^{-1}) - número de trabéculas por unidade de comprimento.
- c. Espessura trabecular (Tb.Th, mm) - espessura média das trabéculas.
- d. Separação da trabecular (Tb.Sp, mm) - espaço médio entre as trabéculas.
- e. Distribuição intra-individual de separação (Tb.Sp.SD, mm) - desvio padrão do inverso da separação trabecular.

(C) Parâmetros da microestrutura cortical:

- a. Espessura cortical (Ct.Th, mm) - espessura média da cortical.

A precisão da HR-pQCT demonstrou um coeficiente de variação de 0,93% - 1,41% no rádio distal e 0,25% - 1,16% na tíbia para medidas de densidade volumétrica e 1,49% - 7,59% no rádio distal e 0,78% - 6,35% na tíbia para parâmetros estruturais.

3.5 Análise do Elemento Finito (FEA)

Para avaliar a força biomecânica dos ossos, modelos lineares de elemento finito (FE) no rádio distal e tíbia foram criados diretamente das imagens obtidas da HR-pQCT, utilizando um *software* específico fornecido pelo fabricante (Software do Elemento Finito, v.1.13, Scanco Medical AG, Suíça, janeiro de 2009, Manual do Fabricante). A análise padrão do FE compreende um teste virtual de resistência, ou seja, o computador estima e analisa o comportamento do tecido ósseo quando este é submetido a uma força compressiva ao longo de seu maior eixo. Para análise do FE, duas propriedades mecânicas do osso em questão precisam ser estimadas: (a) módulo de Young, que mede a capacidade do material retornar ao seu formato original após retirada a força de estresse, indicando assim a elasticidade do tecido. Um módulo de Young de 10 GPa foi utilizado; (b) medida do efeito de Poisson, que mede a transformação transversal (deformidade) do tecido em relação à direção longitudinal de aplicação da carga, isto é, a tendência do material ao ser tracionado aumentar sua dimensão no eixo da tração e diminuir de tamanho nos outros dois eixos. Como reação a esta força de tração aplicada, a elasticidade do material tenderá trazê-lo para sua forma original. Uma relação de Poisson de 0,3 foi atribuído a cada elemento (Fuller *et al.*, 2015) (Figura 8).

Figura 8 - Coeficiente de Poisson (tração/deformidade): mede a deformação transversal (em relação à direção longitudinal de aplicação da carga). Rigidez: resistência à deformação por uma força aplicada. Módulo de Young (elasticidade): razão entre a tensão exercida e a deformação sofrida

As propriedades biomecânicas foram estimadas utilizando o elemento finito (FE):

- (a) rigidez do tecido (*Stiffness* - sigla: *kS*, N/mm);
- (b) estimativa da carga máxima suportada (*Estimated Failure Load* - sigla: *F.ult*, N);
- (c) módulo aparente (*Apparent Modulus* - sigla: *E.app*, N/mm²) - afere a pressão.

3.6 Avaliação Laboratorial dos Marcadores Bioquímicos do Metabolismo Ósseo

Amostras de sangue de todos os indivíduos participantes foram coletadas em jejum no dia da realização do exame de HR-pQCT e armazenados a -80 C para posterior análise. Um marcador de formação óssea sérico, o propeptídeo N-terminal do colágeno tipo 1 (P1NP), um marcador sérico de reabsorção óssea, o telopeptídeo C-terminal do colágeno tipo I (CTX) e o paratormônio intacto (iPTH) foram analisados por sistema automatizado de eletroquimioluminescência da Roche (E411, Roche Diagnostics®, Mannheim, Germany). O coeficiente de variação para o P1NP foi 2,2%, para o CTX foi 2,5% e, para o iPTH foi 2,3% - 5,1% (Seguro *et al.*, 2015). Níveis séricos de esclerostina (SOST) foram medidos pela metodologia enzima imunoensaio (KIT ELISA, Biomedica, Vienna, Austria) e os CV intra- e inter-ensaio foram de 5% e 6%, respectivamente (Saad *et al.*, 2012). A concentração sérica de 25-hidroxivitamina D (25OHD) foi medida utilizando técnica de radioimunoensaio (DiaSorin, Stillwater, MN, USA) com limite mínimo de detecção de 5 ng/mL. Os coeficientes de variação intra e inter-ensaio no nosso laboratório foram de 10,5% e 17,8%, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados de acordo com as instruções dos fabricantes.

3.7 Avaliação Laboratorial dos Hormônios Sexuais Femininos

O hormônio folículo estimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH) e estradiol (E) foram avaliados em todos os pacientes e controles. Todos os ensaios foram realizados utilizando Cobas e 411 Immunoassay Analyzer, Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Germany), de acordo com as instruções do fabricante. Os coeficientes de variação (CVs) intra e inter-ensaio foram menores que 6,0% (Saad *et al.*, 2012).

3.8 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS for Windows, 20.0, Chicago, IL, USA). Os resultados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP) ou mediana (intervalo interquartil) para variáveis contínuas e número (porcentagem) para variáveis categóricas. Para analisar as diferentes variáveis entre pacientes com LESJ vs controles saudáveis, entre pacientes com LESJ com fratura vertebral vs sem fratura vertebral e pacientes com LESJ sem fratura vertebral vs controles saudáveis foram utilizados os testes: teste *t*-Student (variáveis com distribuição normal) ou teste Mann Whitney (variáveis com distribuição não-normal) e testes de qui-quadrado ou exato de Fisher para variáveis categóricas. Parâmetros de HR-pQCT foram comparados após ajuste para variáveis que foram significativas na análise univariada (idade menarca, uso de contraceptivos, regularidade menstrual, atividade física e níveis séricos de 25OHD) e para variáveis que pudessem interferir na análise dos parâmetros do metabolismo ósseo (por exemplo: idade, peso e

uso de glicocorticoides), quando apropriado. Modelos de regressão logística foram realizados para analisar quais fatores eram independentemente associados à fratura vertebral (variável dependente) utilizando variáveis que foram significantes na análise univariada (SLICC-ACR/DI, Tt.DMO, Tb.DMO, BV/TV, E.app). Devido à colinearidade existente entre os parâmetros da HR-pQCT, eles foram sequencialmente adicionados à regressão e o melhor modelo foi selecionado. Foram considerados significativamente estatísticos resultados com valores de p menores que 0,05.

4 RESULTADOS

4.1 Pacientes com LESJ *versus* Controles Saudáveis

Características demográficas, antropométricas e clínicas de pacientes e controles estão demonstradas na Tabela 1.

Tabela 1 - Dados demográficos, antropométricos e clínicos de pacientes com LESJ e controles saudáveis

Variáveis	LESJ (n = 56)	Controles (n = 56)	Valor p
Idade, anos	18,4 ± 3,2	18,6 ± 3,8	0,808
Idade menarca, anos	12,7 ± 1,5	12,1 ± 1,3	0,032
Altura, cm	157,4 ± 7,5	159,3 ± 5,0	0,132
Peso, kg	57,4 ± 10,8	56,8 ± 9,3	0,752
IMC, kg/m ²	23,1 ± 3,6	22,3 ± 3,2	0,205
Estágio de Tanner mamas > II, n(%)	55 (98,2)	53 (96,4)	1,000
Estágio de Tanner púbis > II, n(%)	51 (91,1)	51 (91,1)	1,000
Ciclo Menstrual Regular, n(%)	36 (65,5)	50 (89,3)	0,003
Tabagismo Atual, n(%)	2 (3,6)	0 (0)	0,243
História Prévia de Fraturas, n(%)	1 (1,8)	5 (8,9)	0,206
História Familiar de Osteoporose, n(%)	6 (10,9)	8 (14,3)	0,592
História Familiar de Fraturas, n(%)	3 (5,5)	6 (10,7)	0,489
Atividade Física, min/semana	98 ± 129	200 ± 196	<0,001
Duração da Doença, meses	68,6 ± 47,7	N/A	-
SLEDAI-2K	4,60 ± 5,54	N/A	-
SLICC/ACR-DI ≥ 1, n(%)	11 (19,6)	N/A	-
Dose cumulativa de GC/último ano, g	6,79 ± 7,13	N/A	-
Dose atual de GC/dia, mg	15,99 ± 18,62	N/A	-
Dose máxima de GC/dia, mg	30,27 ± 30,22	N/A	-
Uso de cloroquina/HCL, n(%)	54 (96,4)	N/A	-
Uso de imunossuppressores, n(%)	44 (78,6)	N/A	-
Uso de atual de anticoncepcional, n(%)	13 (23,2)	27 (48,2)	0,021
Uso de cálcio/vitamina D, n(%)	27 (49,1)	1 (1,8)	<0,001

Dados expressos como média ± DP ou número (%). LESJ: lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil; IMC: índice de massa corporal; SLEDAI: índice de atividade de doença; SLICC/ACR-DI: índice de dano do Colégio Americano de Reumatologia; GC: glicocorticoide; HCL: hidroxicloroquina; N/A: não aplicável.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos em relação à idade, altura, peso, IMC e estágio de Tanner. A maioria das participantes tinha a cor da pele branca (> 90%). A idade média da menarca dos pacientes foi significativamente maior quando comparados com controles ($12,7 \pm 1,5$ vs $12,1 \pm 1,3$ anos; $p = 0,032$) e os pacientes apresentavam uma menor frequência de ciclos menstruais regulares ($p = 0,003$). No entanto, os níveis séricos de FSH ($4,92 \pm 2,11$ vs $4,37 \pm 3,04$ IU/L; $p = 0,274$), LH ($8,24 \pm 9,60$ vs $7,11 \pm 14,37$ IU/L; $p = 0,630$) e estradiol ($82,06 \pm 76,29$ vs $66,99 \pm 74,71$ pg/mL; $p = 0,297$) foram semelhantes nos dois grupos de indivíduos. Aproximadamente 50% dos controles estavam em uso de contraceptivos comparados a 25% dos pacientes ($p = 0,021$). Tabagismo atual, história prévia de fraturas, história familiar de osteoporose e/ou fraturas não foram significativamente diferentes entre os grupos analisados ($p > 0,05$). A prática de atividade/exercício físico foi menor nos pacientes que no grupo controle ($p < 0,05$).

Pacientes com LESJ tinham uma duração de doença em média de 68,5 meses, atividade de doença leve observada por escore SLEDAI médio no último ano de 4,6. Onze pacientes (19,6%) tinham pelo menos um escore de dano avaliado por SLICC/ACR-DI ≥ 1 , excluindo osteoporose e fraturas. Dano neuropsiquiátrico foi o mais comumente observado (66,6%), incluindo disfunção cognitiva, crises convulsivas com necessidade de tratamento, acidente cerebrovascular e neuropatia periférica. Setenta por cento dos pacientes estavam em uso atual de glicocorticoides com uma dose média diária de 16 mg. A dose cumulativa média no último ano foi de 6,79 g. Em

torno de 80% dos pacientes estavam em uso de terapia imunossupressora e mais de 50% estavam recebendo suplementação de cálcio e vitamina D.

Em relação à densidade mineral óssea areal, avaliada por DXA, pacientes com LESJ apresentavam menores valores de DMO e Z-score respectivamente na coluna lombar (DMO: $0,860 \pm 0,110$ vs $0,940 \pm 0,090$ g/cm², $p < 0,001$; Z-score: $-1,58 \pm 1,13$ vs $0,53 \pm 0,89$, $p < 0,001$), fêmur total (DMO: $0,820 \pm 0,120$ vs $0,910 \pm 0,100$ g/cm², $p = 0,005$; Z-score: $0,82 \pm 0,12$ vs $0,91 \pm 0,10$, $p = 0,005$), corpo total sem cabeça (DMO: $0,840 \pm 0,070$ vs $0,900 \pm 0,050$ g/cm², $p = 0,001$; Z-score: $-1,75 \pm 0,92$ vs $-0,57 \pm 0,83$, $p = 0,002$) e terço distal do rádio (DMO: $0,640 \pm 0,050$ vs $0,670 \pm 0,040$ g/cm², $p = 0,046$; Z-score: $-0,71 \pm 0,84$ vs $-0,15 \pm 0,76$, $p = 0,003$), comparados com controles saudáveis.

Em relação ao VFA, a maioria das vértebras não visíveis estava localizada nos níveis de T4–T7 (140 [62,5%] de 224). No segmento de T8–L4, 96,83% dos corpos vertebrais (488 de 504) tinham boa visibilidade para análise de presença de fraturas. Doze pacientes (21,4%) apresentavam fraturas vertebrais de acordo com o método semiquantitativo de Genant (Genant *et al.*, 1993). Todas as fraturas vertebrais eram assintomáticas e estavam localizadas nas regiões: torácica baixa e lombar: L3 (cinco fraturas), T11 (quatro fraturas), T12 (três fraturas), L4 (três fraturas), T10 (uma fratura), L1 (uma fratura) e L2 (uma fratura) (Figura 9).

Figura 9 - Exemplo de paciente com fratura vertebral (paciente 4, Tabela 2) avaliada por VFA/DXA através do método semiquantitativo de Genant

A maioria das fraturas vertebrais era grau I (78,9%) e tinham um formato bicôncavo (68,5%) ou em cunha (31,5%) (Tabela 2).

Tabela 2 - Descrição da localização, tipo e grau das fraturas vertebrais presentes nas pacientes avaliadas com lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESJ), de acordo com o método semiquantitativo de Genant

	Fratura Vertebral		
	Localização	Tipo	Grau
Paciente 1	T12	Cunha	I
	L4	Bicôncava	I
Paciente 2	L3	Bicôncava	I
Paciente 3	L3	Bicôncava	I
Paciente 4	T10 - L1	Bicôncava	I
	L2 - L4	Bicôncava	II
Paciente 5	L3	Bicôncava	II
Paciente 6	T11	Cunha	I
Paciente 7	T11	Cunha	I
Paciente 8	L4	Bicôncava	I
Paciente 9	T11	Cunha	I
Paciente 10	T12	Cunha	I
Paciente 11	T11	Cunha	I
Paciente 12	L3	Bicôncava	I

T10: décima vértebra torácica; T11: décima primeira vértebra torácica; T12: décima segunda vértebra torácica; L1: primeira vértebra lombar; L2: segunda vértebra lombar; L3: terceira vértebra lombar; L4: quarta vértebra lombar.

Não houve diferença em relação aos parâmetros bioquímicos do metabolismo ósseo em pacientes com LESJ comparados com controles saudáveis: CTX ($0,572 \pm 0,278$ vs $0,525 \pm 0,332$ ng/mL; $p = 0,428$), P1NP ($102,33 \pm 75,88$ vs $101,40 \pm 76,74$ ng/mL; $p = 0,950$), iPTH ($32,29 \pm 16,20$ vs $34,82 \pm 17,64$ pg/mL; $p = 0,437$) e esclerostina ($23,95 \pm 11,14$ vs $26,87 \pm 12,13$ pmol/L; $p = 0,190$). Maiores valores séricos de 25-hidroxivitamina D foram observados em pacientes com LESJ comparados com controles ($23,14 \pm 6,86$ vs $20,17 \pm 7,46$ ng/mL; $p = 0,034$).

4.2 Pacientes Com LESJ Com Fratura Vertebral *versus* Sem Fratura Vertebral

A análise de pacientes com e sem fratura vertebral (FV) não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados em relação à idade, idade da menarca, IMC, estágio de Tanner, regularidade menstrual, tabagismo, história prévia de fraturas, história familiar de osteoporose e/ou fraturas, atividade física, duração de doença, escore de SLEDAI, e uso de glicocorticoide. Pacientes com fraturas vertebrais apresentavam maiores escores de SLICC/ACR-DI (Tabela 3).

Tabela 3 - Dados demográficos, antropométricos e clínicos de pacientes com LESJ com e sem fratura vertebral (FV)

Variáveis	Presença de FV (n = 12)	Ausência de FV (n = 44)	Valor p
Idade, anos	18,0 ± 2,7	18,5 ± 3,4	0,637
Idade menarca, anos	12,7 ± 1,6	12,7 ± 1,5	0,915
Altura, cm	156,6 ± 6,8	157,7 ± 7,7	0,676
Peso, kg	56,4 ± 10,5	57,7 ± 11,0	0,721
IMC, kg/m ²	23,0 ± 4,4	23,2 ± 3,5	0,927
Estágio de Tanner mamas > II, n(%)	12 (100)	43 (97,7)	1,000
Estágio de Tanner púbis > II, n(%)	11 (91,7)	40 (90,9)	1,000
Ciclo Menstrual Regular, n(%)	5 (41,7)	31 (72,1)	0,084
Tabagismo Atual, n(%)	2 (4,7)	0 (0)	0,999
História Prévia de Fraturas, n(%)	1 (8,3)	0 (0)	0,218
História Familiar de OP/Fraturas, n(%)	3 (25,0)	4 (9,1)	0,160
Atividade Física, min/semana	65 ± 109	107 ± 134	0,187
Duração da Doença, meses	58,3 ± 45,0	71,4 ± 48,6	0,484
Atividade da doença, SLEDAI	4,14 ± 4,04	4,73 ± 5,92	0,896
SLICC/ACR-DI	0,67 ± 0,78	0,11 ± 0,32	0,002
Dose cumulativa de GC/último ano, g	6,98 (0-27,9)	3,67 (0-24,5)	0,446
Dose atual de GC/dia, mg	17,5 (0-50)	8,75 (0-100)	0,640
Dose máxima de GC/dia, mg	32,5 (0-80)	20 (0-160)	0,456
Uso de cloroquina/HCL, n(%)	12 (100)	42 (95,5)	0,999
Uso atual de imunossupressores, n(%)	12 (100)	32 (72,7)	0,051
Uso atual de antiepiléticos, n(%)	2 (16,7)	1 (22,7)	0,113
Uso atual de cálcio/vitamina D, n(%)	6 (50,0)	21 (48,8)	0,943
Uso atual de contraceptivos, n(%)	4 (33,3)	9 (20,5)	0,640

Dados expressos como média ± DP, mediana (IQR) ou número (%). FV: fratura vertebral; IMC: índice de massa corporal; OP: osteoporose; SLEDAI: índice de atividade de doença; SLICC/ACR-DI: Índice de Dano do Colégio Americano de Reumatologia; GC: glicocorticoide; HCL: hidroxiclороquina.

Também não houve diferença estatisticamente significativa em relação às concentrações dos hormônios sexuais femininos entre LESJ com e sem fratura vertebral: FSH (4,01 ± 1,80 vs 5,17 ± 2,14 IU/L; p = 0,092), LH (5,06 ± 2,44 vs 9,12 ± 10,64 IU/L; p = 0,197) e estradiol (49,04 ± 30,00 vs 91,27 ± 82,76 pg/mL; p = 0,090).

Em relação à densidade mineral óssea areal analisada por DXA, pacientes com LESJ com fratura vertebral apresentavam menores valores de DMO na coluna lombar L1-L4 (0,800 ± 0,076 vs 0,870 ± 0,113 g/cm²; p = 0,048),

porém sem diferença significativa no Z-score ($-2,07 \pm 0,87$ vs $-1,44 \pm 1,17$; $p = 0,091$) comparados com pacientes LESJ sem fratura vertebral. Não foi observada diferença em relação à DMO e Z-score, respectivamente, no fêmur total (DMO: $0,767 \pm 0,122$ vs $0,833 \pm 0,111$ g/cm²; $p = 0,081$; Z-score: $-1,68 \pm 1,13$ vs $-1,10 \pm 0,97$; $p = 0,080$), corpo total sem cabeça (DMO: $0,811 \pm 0,040$ vs $0,846 \pm 0,075$ g/cm²; $p = 0,123$; Z-score: $-1,99 \pm 0,64$ vs $-1,67 \pm 0,99$; $p = 0,402$) e terço distal rádio (DMO: $0,646 \pm 0,043$ vs $0,641 \pm 0,005$ g/cm²; $p = 0,771$; Z-score: $-0,58 \pm 0,89$ vs $-0,75 \pm 0,84$; $p = 0,563$).

Em relação aos parâmetros laboratoriais do metabolismo ósseo, não houve diferença em pacientes com LESJ com e sem fratura vertebral: CTX ($0,682 \pm 0,257$ vs $0,541 \pm 0,279$ ng/mL; $p = 0,122$), P1NP ($126,67 \pm 101,60$ vs $95,37 \pm 66,71$ ng/mL; $p = 0,210$), iPTH ($31,15 \pm 12,92$ vs $32,62 \pm 37,14$ pg/mL; $p = 0,785$), níveis séricos de esclerostina ($23,21 \pm 8,80$ vs $24,16 \pm 11,77$ pmol/L; $p = 0,190$) e valores séricos de 25-hidroxivitamina D ($22,25 \pm 6,93$ vs $23,38 \pm 6,90$ ng/mL; $p = 0,618$).

4.3 Parâmetros da HR-pQCT

Em relação aos parâmetros analisados por HR-PQCT no rádio distal, pacientes com LESJ apresentavam menores valores dos parâmetros densitométricos (Tt.DMO, $p = 0,001$; Tb.DMO, $p=0,030$ e Ct.DMO, $p = 0,017$), estruturais (BV/TV, $p = 0,029$; Tb.Th, $p = 0,011$ e Ct.Th, $p < 0,001$) e de todos parâmetros da análise do elemento finito (rigidez, $p = 0,006$; estimativa da carga estimada máxima suportada, $p = 0,049$ e módulo aparente, $p < 0,001$) comparados com controles saudáveis (Tabela 4, valor

de p ajustado). Em relação à análise da tíbia, pacientes com LESJ apresentavam valores significativamente menores na espessura cortical (Ct.Th, $p = 0,039$) e parâmetros da análise do elemento finito (S, $p = 0,019$; F.ult, $p = 0,013$) (Tabela 4, valor de p ajustado).

No que diz respeito aos parâmetros de HR-pQCT do rádio distal, pacientes com LESJ com fratura vertebral apresentavam menores valores de densidade volumétrica (Tt.DMO e Tb.DMO) e parâmetros estruturais (BV/TV) comparados com LESJ sem fraturas vertebrais. Em relação às propriedades biomecânicas, pacientes com fratura vertebral apresentavam menores valores do módulo aparente (E.app) em relação aos pacientes sem fratura vertebral. Estas diferenças não foram observadas na região da tíbia (Tabela 4, valor de p ajustado*).

Na análise dos pacientes sem fratura vertebral comparados com controles saudáveis, pacientes apresentavam menores valores de densidade mineral óssea volumétrica (Tt.DMO, $p = 0,010$ e Ct.DMO, $p = 0,041$), espessura cortical (Ct.Th, $p = 0,002$) e parâmetros da análise do elemento finito (S, $p < 0,001$; F.ult, $p < 0,001$ e E.app, $p = 0,002$) avaliados no rádio distal. Na tíbia, foram encontrados menores valores da análise do elemento finito (S, $p = 0,042$ e F.ult, $p = 0,029$) em pacientes com LESJ sem fratura vertebral comparados com controles (Tabela 4, valor de p ajustado e Figuras 10 e 11).

Tabela 4 - Dados de densidade volumétrica, microarquitetura e resistência óssea no rádio distal e tíbia por HR-pQCT em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESJ) com e sem fratura vertebral (FV) e controles saudáveis

Parâmetros	LESJ		LESJ		LESJ		LESJ		LESJ		LESJ	
	Presença de FV (n = 12)	Ausência de FV (n = 44)	Controles (n = 56)	LESJ vs Controles valor p não ajustado	LESJ vs Controles valor p ajustado	% Δ	Presença de FV vs Ausência de FV valor p ajustado *	% Δ	Ausência de FV vs Controles valor p ajustado	% Δ		
Rádio Distal												
Tt.DMO, mg HA/cm ³	229 ± 42	276 ± 57	319 ± 68	<0,001	0,001	-26,4	0,034	-20,5	0,010			-15,6
Tb.DMO, mg HA/cm ³	137 ± 31	163 ± 35	176 ± 27	0,003	0,030	-17,3	0,034	-18,9	0,161			-7,9
Ct.DMO, mg HA/cm ³	743 ± 87	788 ± 106	837 ± 94	0,002	0,017	-9,3	0,560	-6,1	0,041			-6,2
BV/TV	0,11 ± 0,03	0,14 ± 0,03	0,15 ± 0,02	0,003	0,029	-20,0	0,034	-27,3	0,157			-7,1
Tb.N, 1/mm	1,99 ± 0,31	2,12 ± 0,28	2,14 ± 0,23	0,391	0,541	-4,1	0,100	-6,5	0,896			-0,9
Tb.Th, mm	0,057 ± 0,006	0,064 ± 0,010	0,069 ± 0,011	0,001	0,011	-15,0	0,079	-12,3	0,067			-7,8
Tb.Sp, mm	0,461 ± 0,105	0,416 ± 0,074	0,405 ± 0,052	0,111	0,253	-7,6	0,081	-9,8	0,498			2,6
Tb.1/N.SD, mm	0,193 ± 0,099	0,159 ± 0,039	0,157 ± 0,030	0,749	0,589	10,8	0,081	17,6	0,896			1,3
Ct.Th, mm	0,43 ± 0,17	0,52 ± 0,22	0,68 ± 0,21	<0,001	<0,001	-45,6	0,486	-20,9	0,002			-30,8
S, N/mm	61600 ± 34636	61815 ± 13493	71862 ± 12103	<0,001	0,006	-16,5	0,424	-0,3	<0,001			-16,3
F. ult, N	3196 ± 2345	3005 ± 619	3453 ± 561	<0,001	0,049	-11,4	0,245	6,0	<0,001			-14,9
E.app, N/mm ²	1236 ± 334	1523 ± 367	1867 ± 470	<0,001	<0,001	-35,3	0,039	-23,2	0,002			-22,6

Continua

Conclusão

Parâmetros	LESJ		LESJ vs Controles valor p não ajustado	LESJ vs Controles valor p ajustado	LESJ Presença de FV vs Ausência de FV valor p ajustado*	LESJ Ausência de FV vs Controles valor p ajustado	% Δ
	Presença de FV (n = 12)	Ausência de FV (n = 44)					
Tíbia							
Tt.DMO, mg HA/cm³	279 ± 47	309 ± 52	0,024	0,085	-10,8	0,148	-10,8
Tb.DMO, mg HA/cm³	154 ± 47	172 ± 31	0,096	0,342	-9,2	0,185	-11,7
Ct.DMO, mg HA/cm³	910 ± 36	907 ± 51	0,341	0,465	-0,8	0,515	0,3
BV/TV	0,13 ± 0,04	0,14 ± 0,03	0,097	0,347	-11,1	0,182	-7,7
Tb.N, 1/mm	1,81 ± 0,31	1,78 ± 0,33	0,071	0,134	-95	0,903	1,7
Tb.Th, mm	0,072 ± 0,019	0,082 ± 0,016	0,931	0,625	-3,9	0,217	-13,9
Tb.Sp, mm	0,496 ± 0,100	0,496 ± 0,092	0,036	0,113	7,1	0,791	0
Tb.1/N.SD, mm	0,218 ± 0,060	0,218 ± 0,058	0,106	0,255	7,3	0,644	0
Ct.Th, mm	1,01 ± 0,21	1,10 ± 0,24	0,011	0,039	-12,8	0,323	-8,9
S, N/mm	176358 ± 29561	189623 ± 34479	0,003	0,019	-12,1	0,537	-7,5
F.ult, N	8516 ± 1311	9020 ± 1572	0,002	0,013	-11,5	0,674	-5,9
E.app, N/mm²	2192 ± 605	2481 ± 467	0,015	0,089	-13,2	0,142	-13,2

Dados expressos como média ± DP. Tt.DMO=densidade volumétrica total; Tb.DMO=densidade trabecular; Ct.DMO: densidade cortical; HA=hidroxiapatita; BV/TV= fração do volume ósseo pelo volume trabecular; Tb.N=número de trabéculas; Tb.Th=espessura trabecular; Tb.Sp=separação trabecular; Tb.1/N.SD=heterogeneidade das trabéculas; Ct.Th=espessura cortical; S=rigidez; F.ult=estimativa da carga máxima suportada; E.app=módulo aparente. valor p ajustado: ajustado para idade da menarca, regularidade menstrual, níveis séricos de vitamina D, uso de contraceptivos, atividade física, idade e peso. % Δ: percentagem de variação. valor p ajustado*: ajustado para idade, peso e dose atual de glucocorticoides.

Figura 10 - Análise densitométrica e estrutural após reconstrução 3D do rádio distal, por HR-pQCT. (A) paciente com LESJ e (B) controle

Figura 11 - Análise densitométrica e estrutural após reconstrução 3D da tíbia, por HR-pQCT. (A) paciente com LESJ e (B) controle

O poder da amostra para Tb.DMO foi de 89% e para Ct.DMO foi de 86%.

A análise de regressão logística incluindo SLICC/ACR-DI e parâmetros de HR-pQCT que foram significantes na análise univariada revelou que Tb.DMO no rádio distal (OR: 0,98; IC95% 0,95-0,99; $p = 0,039$)

e SLICC/ACR-DI (OR: 7,37, IC95% 1,75-30,97; $p = 0,006$) foram fatores de risco independentes para ocorrência de fraturas vertebrais. A análise foi realizada por unidade de acréscimo para cada parâmetro avaliado. Neste sentido, um aumento na Tb.DMO do rádio distal é um fator protetor para fraturas vertebrais (OR = 0,98) e um aumento nos valores de escore de dano (SLICC/ACR-DI) um fator de risco para ocorrência de fraturas vertebrais (OR = 7,37).

5 DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou pela primeira vez comprometimento da microarquitetura óssea trabecular e cortical e da resistência óssea principalmente na região de rádio distal, em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil (LESJ) utilizando a HR-pQCT. Além disso, observou-se que a fratura vertebral estava associada a um maior comprometimento trabecular na região do rádio distal nestes pacientes.

A HR-pQCT é um método novo, não invasivo, rápido e com relativa baixa dose de radiação que permite avaliar de modo preciso os parâmetros da microarquitetura, da densidade mineral óssea volumétrica e de resistência óssea. Estudos prévios na literatura demonstraram sua precisão em pacientes adultos com lúpus (Tang *et al.*, 2013a) e em crianças e adolescentes saudáveis com fratura de rádio distal (Burrows *et al.*, 2010).

Utilizando esta nova metodologia, foram observados menores valores de densidade mineral óssea volumétrica assim como comprometimento da microarquitetura e resistência óssea em pacientes com LESJ comparados com controles saudáveis. Estes achados podem ocorrer devido a uma disfunção ovariana, visto que, foram observados idade de menarca mais tardia e maior frequência de irregularidade menstrual nos pacientes com LESJ, apesar dos níveis de estradiol serem semelhantes em pacientes e controles na entrada do estudo. Por outro lado, a atividade física reduzida

observada neste grupo de pacientes pode contribuir para estas alterações ósseas (Lee e Ramsey-Goldman, 2005).

Medicamentos como, por exemplo, os antiepilépticos também têm sido associados a um maior comprometimento do metabolismo ósseo (Beerhorst *et al.*, 2013), entretanto neste estudo não foi observada diferença entre pacientes com LESJ que estavam em uso destas medicações provavelmente devido ao baixo número de pacientes em uso destes fármacos.

Baixos níveis séricos de vitamina D nos pacientes com lúpus podem ser secundários a uma menor exposição solar devido à fotossensibilidade e à recomendação médica assim como ocorrer em decorrência de atividade de doença (Arya *et al.*, 2004; Casella *et al.*, 2012), refletindo um risco adicional para osteoporose neste grupo de pacientes. Entretanto, nossos pacientes com LESJ apresentavam maiores níveis séricos de vitamina D comparado ao grupo controle, possivelmente secundário à suplementação que recebiam.

Interessantemente, os parâmetros trabeculares e corticais apresentavam-se mais comprometidos no rádio distal do que na tíbia. Nossa hipótese é que este achado possa estar relacionado a diferenças substanciais nas forças experimentadas nas diferentes regiões do esqueleto. A força aplicada aos ossos longos geralmente é resultado de tarefas e atividades de vida diária, as quais estão preservadas na maioria dos pacientes com LESJ (Sasimontunkul *et al.*, 2007; Wehner *et al.*, 2009). Ao contrário, durante o movimento ativo, o punho experimenta forças menores de compressão axial que podem não ser suficientes para compensar os efeitos deletérios no osso secundário a própria doença e uso de medicações (Burr e Martin, 1983). Uma

vez que as medidas mensuradas na tíbia são mais precisas as aferidas no rádio distal (Paggiosi *et al.*, 2014), o achado de não significância encontrado na tíbia parece não ser devido a erro de medida.

Além disso, nosso estudo confirmou estudos prévios, identificando uma alta frequência de fraturas vertebrais nos pacientes com LESJ, principalmente nas regiões torácica baixa e lombar (Borba *et al.*, 2005; Regio *et al.*, 2008; Almehed *et al.* 2010; Huber *et al.*, 2010; Rodd *et al.*, 2012; LeBlanc *et al.*, 2015). Interessantemente, esta complicação esteve associada com comprometimento da densidade trabecular, microarquitetura e resistência óssea no rádio distal.

Fatores de risco tradicionais que sabidamente estão associados à alteração óssea em crianças e adolescentes, como estágio puberal e estado hormonal (Lee e Ramsey-Goldman, 2005; Viswanathan e Sylvester, 2008; Bultink, 2012) não foram diferentes nos dois grupos de pacientes com LESJ analisados. Outros fatores como: tabagismo, história prévia de fratura, história familiar de osteoporose/fratura (Lee e Ramsey-Goldman, 2005) também foram semelhantes entre os grupos e isto pode ser devido ao número de pacientes incluídos no estudo.

Não houve diferença significativa entre os pacientes com e sem fraturas vertebrais em relação ao uso de glicocorticoides (dose cumulativa no último ano, dose atual e dose máxima). Este achado é semelhante a alguns relatos prévios na literatura de pacientes adultos com LES (Bultink *et al.*, 2005; Tang *et al.*, 2013b), porém discordante de outros estudos que evidenciam uma associação entre uso de glicocorticoides e baixa aDMO e fraturas (Kalla, 1993; Yee *et al.*, 2005). As razões para esta observação

ainda não estão totalmente elucidadas podendo estar relacionadas às características dos pacientes avaliados, média de idade, tempo de duração de doença e o tratamento instituído. O fato dos marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo serem comparáveis entre LESJ com e sem fratura vertebral pode ser explicado pela semelhança entre os grupos com LESJ em relação ao uso de glicocorticoides (dose atual e dose máxima) e níveis séricos de vitamina D.

Os marcadores bioquímicos do remodelamento ósseo (MBRO) foram recentemente recomendados para todos futuros estudos que avaliassem risco de fratura e monitoramento do tratamento da osteoporose (Vasikaran *et al.*, 2011), entretanto ainda faltam dados em relação a seu papel no lúpus. Bhattoa *et al.* (2004) descreveram uma significativa diminuição dos níveis séricos de CTX na avaliação inicial e em todas as avaliações subsequentes após um ano de reposição com estrógeno transdérmico em pacientes pós-menopausadas com LES. Nosso grupo recentemente descreveu que baixos níveis séricos de P1NP na avaliação inicial (*baseline*) de mulheres pré-menopausadas era um fator de risco independente para perda de densidade mineral óssea futura (Seguro *et al.*, 2015). Os marcadores bioquímicos do remodelamento ósseo são uma ferramenta adicional na avaliação das desordens do metabolismo ósseo, entretanto ainda são necessárias referências padronizadas internacionais de medida destes marcadores assim como definição dos intervalos de referência, os quais ainda não estão universalmente definidos. No nosso estudo, não foi encontrada diferença entre dosagens séricas destes marcadores (CTX, P1NP, iPTH, esclerostina) entre os pacientes com LESJ e controles saudáveis, assim como nos

pacientes com LESJ com fratura vertebral vs pacientes com LESJ sem fratura vertebral.

Também não foi encontrada associação entre índice de atividade de doença (SLEDAI) e qualidade e/ou resistência óssea. Estudos anteriores têm encontrado resultados semelhantes, nos quais não se pôde estabelecer uma associação entre altos índices de SLEDAI e alterações da aDMO e microestrutura em pacientes adultos com LES (Dhillon *et al.*, 1990; Hansen *et al.*, 1998; Tang *et al.*, 2012). Este achado pode ser explicado pelo fato de que a medida do índice de atividade de doença estar relacionada a um período curto de tempo, o que limita sua utilidade na previsão de resultados a longo prazo, tais como qualidade óssea, principalmente numa doença com curso flutuante como o lúpus.

A associação observada entre FV com o alto escore de dano de doença sugere que a gravidade da doença e/ou seu tratamento podem contribuir para esta complicação, mesmo excluindo-se o item relacionado à saúde óssea (osteoporose e/ou fratura). Está bem estabelecido que altos índices de dano pelo SLICC/ACR-DI em pacientes com LES adultos estão associados com redução da aDMO (Pineau *et al.*, 2004) e alteração da microestrutura óssea (Tang *et al.*, 2012). O dano a órgãos-alvos é, na verdade, um retrato da lesão da própria doença a longo prazo e/ou seu tratamento (Gladman *et al.*, 1996).

Uma vez que parâmetros trabeculares (Tb.DMO) avaliados por HR-pQCT no rádio distal foram fatores de risco para a presença de fraturas vertebrais, estes dados sugerem que esta nova técnica de imagem não-

invasiva pode identificar pacientes com alto risco para fraturas vertebrais. Estudos longitudinais, avaliando a ocorrência de fraturas incidentes em pacientes com LESJ são importantes para confirmar estes achados.

6 CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou pela primeira vez o comprometimento da densidade volumétrica, microarquitetura e resistência óssea em pacientes com LESJ, particularmente no rádio distal comparados com controles saudáveis.

Além disso, nossos resultados demonstraram que as fraturas vertebrais estão associadas a uma maior deterioração do osso trabecular no rádio distal, enfatizando o potencial efeito deletério da doença e seu tratamento nesta condição.

Não foi observada diferença entre os parâmetros bioquímicos do metabolismo ósseo em pacientes com LESJ comparado com controles e em pacientes com LESJ com e sem fraturas vertebrais.

7 ANEXOS

Anexo A - Aprovação da CAPPesq

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

PROJETO DE PESQUISA

Título: AVALIAÇÃO DA MICROARQUITETURA ÓSSEA POR TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA QUANTITATIVA PERIFÉRICA DE ALTA RESOLUÇÃO (HR-PQCT) EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO JUVENIL

Pesquisador Responsável: Rosa Maria Rodrigues Pereira

Versão: 3

Pesquisador Executante: Juliane Aline Paupitz

CAAE: 07125812.2.0000.0068

Co-autores: Glaucete Leão Lima

Instituição: HCFMUSP

Departamento: CLÍNICA MÉDICA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 9241

Número do Parecer: 294.232

Data da Relatoria: 05/06/2013

Apresentação da Notificação: Os pesquisadores solicitam a ampliação da idade de recrutamento da casuística, que era até 25 anos, para mulheres até a pré-menopausa, que preencham os critérios de inclusão e exclusão.

Objetivo da Notificação: A solicitação se deve ao fato da raridade da doença e a necessidade de aumentar o número de sujeitos de pesquisa para analisar a associação dos dados radiológicos com os dados clínicos e laboratoriais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios: Não haverá acréscimo de riscos em relação ao projeto base.

Comentários e Considerações sobre a Notificação: A extensão do projeto é necessária para que se possa analisar adequadamente os parâmetros escolhidos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Não há necessidade de modificações.

Recomendações: Não há recomendações adicionais em relação àquelas já feitas para o projeto inicial.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: A extensão é necessária para que o estudo seja finalizado adequadamente e não acrescente riscos aos já existentes no projeto inicial.

Situação do Parecer: Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP: Não

Considerações Finais a critério do CEP: Em conformidade com o item IX.2 da Resolução CNS nº 196/96 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

São Paulo, 06 de Junho de 2013

Prof. Dr. Luiz Engênio Garcez Leme
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa-CAPPesq

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar
CEP 05403-010 - São Paulo - SP.tnb
55 11 2661-7585 - 55 11 2661-6442 ramais: 16, 17, 18 | marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

Anexo B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**CONTROLES****HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA****UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**1. NOME:**DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.).....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA **Avaliação da Microarquitetura Óssea por Tomografia Computadorizada Quantitativa Periférica de Alta Resolução em Pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil.**

2. PESQUISADORES: Rosa Maria Rodrigues Pereira

CARGO/FUNÇÃO: Profa Associada

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 45920

UNIDADE DO HCFMUSP: Reumatologia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒

RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐

RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 meses

- 1 - Você ou sua filha (caso menor de 18 anos) está(o) sendo convidada(s) a participar deste estudo, onde iremos comparar o osso de crianças/adolescentes ou adultos jovens (10-25 anos de idade) que não possuem nenhuma doença com o osso de crianças/adolescentes ou adultos jovens com Lúpus Eritematoso Sistêmico.
- 2 - Será aplicado questionário com perguntas sobre a idade da primeira menstruação e regularidade menstrual, fraturas (se você já quebrou algum osso), história na família de osteoporose ou fratura, uso de protetor solar, alimentação (se você come ou bebe alimentos ricos em cálcio), atividade física. Serão também realizadas medidas de peso e altura.
- 3 - Será colhido sangue (20 mL, aproximadamente 4 colheres de sopa) e será realizado um exame de densitometria óssea (exame semelhante a um Raio-X, para ver a quantidade de osso), e uma tomografia da sua perna e braço esquerdo para ver a quantidade e qualidade do seu osso.
- 4 - Existem riscos mínimos se você participar do estudo como sangramentos e manchas roxas no local da coleta de sangue e a quantidade de radiação no exame de densitometria e de tomografia é muito pequena (menor que um exame de RX de tórax).
- 5 - A partir dos resultados desta pesquisa poderemos conhecer melhor o seu osso e também quais as chances das pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico terem osteoporose (ossos mais fracos) mesmo quando jovens (crianças, adolescentes e mulheres jovens).
- 6 - Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dra **Rosa Maria Rodrigues Pereira** que pode ser encontrada no endereço **Av. Dr. Arnaldo, 455, 3º andar sala 3105 - CEP: 01246-903, São Paulo-SP** Telefone(s) 11-3061-7213, rosamariarp@yahoo.com. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

- 7 - Você pode suspender a autorização a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;
- 8 - As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;
- 9 - Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.
- 10 - Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo, o participante tem direito a tratamento médico na Instituição.
- 11 - Pedimos o seu consentimento (se idade igual ou maior de 18 anos) ou de sua filha (se idade menor que 18 anos) para utilizar os dados e o material coletado (o sangue será guardado a - 80oC, em biorepositório) para a utilização nesta pesquisa e outras pesquisas sobre lúpus juvenil do nosso Grupo (responsável Prof. Rosa M R Pereira) nos próximos 10 anos.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo Avaliação da Microarquitetura Óssea por Tomografia Computadorizada Quantitativa Periférica de Alta Resolução em Pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil.

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

Assinatura da paciente (≥ 18 anos) ou
representante legal (>10 anos e < 18 anos)

Data / /

Assinatura da testemunha

Data / /

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

(Somente para o responsável do projeto)

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

Assinatura do responsável pelo estudo

Data / /

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

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**1. NOME:**DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.).....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA **Avaliação da Microarquitetura Óssea por Tomografia Computadorizada Quantitativa Periférica de Alta Resolução em Pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil.**

2. PESQUISADORES: Rosa Maria Rodrigues Pereira

CARGO/FUNÇÃO: Profa Associada

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 45920

UNIDADE DO HCFMUSP: Reumatologia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒

RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐

RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 meses

- 1 - Você ou sua filha (caso menor de 18 anos) está(o) sendo convidada(s) a participar deste estudo, onde iremos ver se crianças, adolescentes ou adultos jovens com Lúpus Eritematoso Sistêmico possuem mais osteoporose (quando os ossos ficam mais fracos).
- 2 - Será aplicado questionário com perguntas sobre a paciente com lúpus a idade da primeira menstruação e regularidade menstrual, uso de medicações, fraturas (se você já quebrou algum osso), história na família de osteoporose ou fratura, uso de protetor solar, alimentação (se você come ou bebe alimentos ricos em cálcio), atividade física. Serão também realizadas medidas de peso e altura.
- 3 - Será colhido sangue (20 mL, aproximadamente 4 colheres de sopa) e será realizado um exame de densitometria óssea (exame semelhante a um Raio-X, para ver a quantidade de osso), e uma tomografia da sua perna e braço esquerdo para ver a quantidade e qualidade do seu osso.
- 4 - Existem riscos mínimos se você participar do estudo como sangramentos e manchas roxas no local da coleta de sangue e a quantidade de radiação no exame de densitometria e de tomografia é muito pequena (menor que um exame de RX de tórax).
- 5 - A partir dos resultados desta pesquisa poderemos conhecer melhor quais as chances das pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico de ter osteoporose (ossos mais fracos) mesmo quando jovens (adolescentes e mulheres jovens).
- 6 - Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dra **Rosa Maria Rodrigues Pereira** que pode ser encontrada no endereço **Av. Dr. Arnaldo, 455, 3º andar sala 3105 - CEP: 01246-903, São Paulo-SP** Telefone(s) 11-3061-7213, rosamariarp@yahoo.com. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

- 7 - Você pode suspender a autorização a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;
- 8 - As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;
- 9 - Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.
- 10 - Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo, o participante tem direito a tratamento médico na Instituição.
- 11 - Pedimos o seu consentimento (se idade igual ou maior de 18 anos) ou de sua filha (se idade menor que 18 anos) para utilizar os dados e o material coletado (o sangue será guardado a -80°C , em biorepositório) para a utilização nesta pesquisa e outras pesquisas sobre lúpus juvenil do nosso Grupo (responsável Prof. Rosa M R Pereira) nos próximos 10 anos.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo Avaliação da Microarquitetura Óssea por Tomografia Computadorizada Quantitativa Periférica de Alta Resolução em Pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil.

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

Assinatura da paciente (≥ 18 anos) ou
representante legal (>10 anos e < 18 anos)

Data / /

Assinatura da testemunha

Data / /

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

(Somente para o responsável do projeto)

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

Assinatura do responsável pelo estudo

Data / /

Anexo C - Questionário Padronizado

Avaliação do Metabolismo Ósseo e Microestrutura Óssea por HR-pQCT no Lúpus Juvenil

Critérios de Exclusão: Sexo masculino
Uso prévio de Bisfosfonatos
Gestantes / Lactantes
Doenças que interfiram metabolismo ósseo

Identificação RGHC -
Nome/sobrenome -
Fone residencial - Fone comercial
Endereço -
CEP -

Data de nascimento: ____/____/____

Idade atual - anos

Altura - m

Peso - Kg

IMC - kg/m²

Estação do ano: 1) primavera 2) verão 3) outono 4) inverno

Fatores de Risco para Osteoporose e Fraturas

Idade da Menarca - anos

Ciclo menstrual - 1. regular 2. irregular descrever

Estágio de Tanner auto-reportado (foto anexa): M1 M2 M3 M4 M5 P1 P2 P3 P4 P5

Número de filhos -

Alcoolismo - 1. sim 2. não

Atividade física regular (questionário anexo):

Tabagismo atual - 1. sim 2. não Número de cigarros/dia -

Tabagismo pregresso - 1. sim 2. não -

História de pelo menos uma queda no último ano - 1. sim 2. não -

Número de quedas no último ano -

História de fratura não relacionada a acidente com trauma - 1. sim 2. não -

Local(is) acometido(s) - 1. clavícula / 2. úmero / 3. Punho / 4. Pelve / 5. quadril / 6. Perna /
7. outras -

História familiar de osteoporose - 1. sim 2. não -

História familiar de fratura atraumática - 1. sim 2. não -

DADOS relacionados ao Lúpus Juvenil:

Tempo de doença (meses):

SLEDAI score atual: Média nos últimos 12 meses:

SLICC score atual: Média nos últimos 12 meses:

Uso de glicocorticóide nos últimos 12 meses:

Dose atual de prednisona, mg/dia:

Dose máxima de prednisona, mg/dia:

Dose cumulativa de prednisona (12 meses), mg:

Uso de imunossupressores prévio:

Azatioprina: Duração de uso:

Dose atual (mg/kg/dia e total):

Dose máxima:

Metotrexato: Duração de uso:

Dose atual (mg/kg/dia e total):

Dose máxima:

Ciclofosfamida: Duração de uso:

Dose atual (mg/kg/dia e total):

Dose máxima:

Ciclosporina: Duração de uso:

Dose atual (mg/kg/dia e total):

Dose máxima:

Mofetil: Duração de uso:

Dose atual (mg/kg/dia e total):

Dose máxima:

Cloroquina: Duração de uso:

Dose atual (mg/kg/dia e total):

Dose máxima:

Hidroxicloroquina: Duração de uso:

Dose atual (mg/kg/dia e total):

Dose máxima:

Uso atual de outras medicações:

Anti- convulsivantes - 1. sim 2. não -

Tiazídicos - 1. sim 2. não -

Estatinas -1. sim 2. não -

Marevam - 1. sim 2. não -

Cálcio e vitamina D - 1. sim 2. não -

Contraceptivos - 1. sim 2. não -

Dados de densitometria óssea (DXA):

DMO da coluna L1-L4 -g/cm²
 Índice T L1-L4 -
 Índice Z L1- L4 -
 DMO da colo de fêmur (CF) -g/cm²
 Índice T CF -
 Índice Z CF -
 DMO do fêmur total (FT) -g/cm²
 Índice T FT -
 Índice Z FT -
 DMO do corpo total (CP) sem cabeça -g/cm²
 Índice T CP -
 Índice Z CP -
 DMO rádio distal RD (antebraço não dominante) -g/cm²
 Índice T RD -
 Índice Z RD -

Dados de VFA por DXA:

Vértebras não visualizadas, descrição:
 0. sem fratura (< 20% redução do tamanho vertebral),
 1. fratura leve (20-25%),
 2. fratura moderada (25 a 40%),
 3. fratura grave (> 40%)

Dados de HR-pQCT da Tíbia:

Densidade volumétrica Óssea Total (Tt.DMO), mgHA/cm³:.....
 Densidade volumétrica Óssea Trabecular (Tb.DMO), mgHA/cm³:
 Densidade volumétrica Óssea Cortical (Ct.DMO), mg HA/cm³:
 Espessura cortical (Ct.Th), µm:
 Fração Óssea volume Trabecular (BV/TV), %:
 Espessura Trabecular (Tb.Th), µm:.....
 Número Trabecular (Tb.N), 1/mm:
 Separação Trabecular (Tb.Sp), µm:
 Distribuição da Separação Intraindividual Trabecular (Tb.Sp.SD), µm:

Dados de HR-pQCT do Rádio Distal não dominante:

Densidade volumétrica Óssea Total (Tt.DMO), mg HA/cm³:

Densidade volumétrica Óssea Trabecular (Tb.DMO), mg HA/cm³:

Densidade volumétrica Óssea Cortical (Ct.DMO), mg HA/cm³:

Espessura cortical (Ct.Th), µm:

Fração Óssea volume Trabecular (BV/TV), %:

Espessura Trabecular (Tb.Th), µm:

Número Trabecular (Tb.N), 1/mm:

Separação Trabecular (Tb.Sp), µm:

Distribuição da Separação Intraindividual Trabecular (Tb.Sp.SD), µm:

Dados de Elemento Finito por HR-pQCT:

Rigidez (*kS*), N/mm:

Estimativa de carga máxima suportada (*F.ult*), N:

Módulo Aparente (*E.app*), N/mm²:

FSH (no 1-3 dia do ciclo menstrual), UI/L:

LH, UI/L:

Estrógeno, pg/mL:

25OHD, ng/mL:

PTH, pg/mL:

P1NP, ng/mL:

CTX, ng/mL:

Esclerostina, pmol/L:

Radiografia de coluna: grau de comprometimento:

Vértebras não visualizadas, descrição:

0. sem fratura (< 20% redução do tamanho vertebral),

1. fratura leve (20-25%),

2. fratura moderada (25 a 40%),

3. fratura grave (> 40%)

RX mãos para avaliação de idade óssea:

Foto: Estágio de Tanner autorreportado:

Fonte: Duke, PM, Litt, IF, Gross, RT (1980) Adolescents' self-assessment of sexual maturation. Pediatrics 66: 918-920.

Questionário de Atividade Física para Crianças e Adolescentes:

Questionário de Atividade Física para Adolescentes - QAFA

Para cada uma das atividades físicas listadas abaixo, você deverá responder quantos dias por semana e quanto tempo por dia, em média, você praticou na **SEMANA PASSADA**. Caso tenha praticado alguma atividade física que não esteja listada abaixo, escreva o(s) nome(s) da(s) atividade(s) no espaço reservado no final da lista (linhas em branco).

Atividades físicas	Quantos dias?	Quanto tempo cada dia?
	0 a 7 dias	Tempo (horas:minutos)
Futebol (campo, de rua, society)		____ horas ____ minutos
Futsal		____ horas ____ minutos
Handebol		____ horas ____ minutos
Basquete		____ horas ____ minutos
Andar de patins, skate		____ horas ____ minutos
Atletismo		____ horas ____ minutos
Natação		____ horas ____ minutos
Ginástica olímpica, rítmica		____ horas ____ minutos
Judô, karatê, capoeira, outras lutas		____ horas ____ minutos
Jazz, balé, dança moderna, outros tipos de dança		____ horas ____ minutos
Correr, trotar (jogging)		____ horas ____ minutos
Andar de bicicleta		____ horas ____ minutos
Caminhar como exercício físico		____ horas ____ minutos
Caminhar como meio de transporte (ir à escola, trabalho, casa de um amigo (a)). (Considerar o tempo de ida e volta)		____ horas ____ minutos
Voleibol		____ horas ____ minutos
Vôlei de praia ou de areia		____ horas ____ minutos
Queimado, baleado, pular cordas		____ horas ____ minutos
Surfe, bodyboard		____ horas ____ minutos
Musculação		____ horas ____ minutos
Exercícios abdominais, flexões de braços, pernas		____ horas ____ minutos
Tênis de campo (quadra)		____ horas ____ minutos
Passear com o cachorro		____ horas ____ minutos
Ginástica de academia, ginástica aeróbica		____ horas ____ minutos
Futebol de praia (beach soccer)		____ horas ____ minutos
Outras atividades físicas que não estão na lista acima:		____ horas ____ minutos
		____ horas ____ minutos
		____ horas ____ minutos

Fonte: Farias Junior JC et al. (2012) Validity and reproducibility of a physical activity questionnaire for adolescents: adapting the Self-Administered Physical Activity checklist. Rev Bras Epidemiol 15:198-210.

8 REFERÊNCIAS

Almehed K, Hetényi S, Ohlsson C, Carlsten H, Forsblad-d'Elia H. Prevalence and risk factors of vertebral compression fractures in female SLE patients. *Arthritis Res Ther*. 2010; 12(4): R153.

Arya V, Bhambri R, Godbole MM, Mithal A. Vitamin D status and its relationship with bone mineral density in healthy Asian Indians. *Osteoporos Int*. 2004; 15(1): 56-61.

Beerhorst K, Tan IY, De Krom M, Verschuure P, Aldenkamp AP. Antiepileptic drugs and high prevalence of low bone mineral density in a group of inpatients with chronic epilepsy. *Acta Neurol Scand*. 2013; 128(4): 273-80.

Bhattoa HP, Bettembuk P, Balogh A, Szegedi G, Kiss E. The effect of 1-year transdermal estrogen replacement therapy on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in osteopenic postmenopausal systemic lupus erythematosus patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Osteoporos Int*. 2004; 15(5):396-404.

Bolotin HH. DXA in vivo BMD methodology: an erroneous and misleading research and clinical gauge of bone mineral status, bone fragility, and bone remodelling. *Bone*. 2007 41(1): 138-54.

- Borba VZ, Matos PG, da Silva Viana PR, Fernandes A, Sato EI, Lazaretti-Castro M. High prevalence of vertebral deformity in premenopausal systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*. 2005; 14(7): 529-33.
- Boutroy S, Buxsein ML, Munoz F, Delmas PD. In vivo assessment of trabecular bone microarchitecture by high-resolution peripheral quantitative computed tomography. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90: 6508-15.
- Bultink IE, Lems WF, Kostense PJ, Dijkmans BA, Voskuyl AE. Prevalence of and risk factors for low bone mineral density and vertebral fractures in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2005; 52(7): 2044-50.
- Bultink IEM. Osteoporosis and fractures in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Care Res*. 2012; 64 (1): 2-8.
- Burnham JM, Leonard MB. Bone disease in pediatric rheumatologic disorders. *Curr Rheumatol Rep*. 2004; 6(1): 70-8.
- Burr BD, Martin RB. The effects of composition, structure and age on the torsional properties of the human radius. *J Biomech*. 1983; 16: 603-8.
- Burrows M, Liu D, Perdios A, Moore S, Mulpuri K, McKay H. Assessing bone microstructure at the distal radius in children and adolescents using HR-pQCT: a methodological pilot study. *J Clin Densitom*. 2010; 13(4): 451-5.
- Casella CB, Seguro LP, Takayama L, Medeiros D, Bonfa E, Pereira RM. Juvenile onset systemic lupus erythematosus: a possible role for vitamin D in disease status and bone health. *Lupus*. 2012; 21(12): 1335-42.

Cheung AM, Adachi JD, Hanley DA, Kendler DL, Davison KS, Josse R, Brown JP, Ste-Marie LG, Kremer R, Erlandson MC, Dian L, Burghardt AJ, Boyd SK. High-resolution peripheral quantitative computed tomography for the assessment of bone strength and structure: a review by the Canadian Bone Strength Working Group. *Curr Osteoporos Rep*. 2013; 11(2): 136-46.

Dhillon VB, Davies MC, Hall ML, Round JM, Ell PJ, Jacobs HS, Snaith ML, Isenberg DA. Assessment of the effect of oral corticosteroids on bone mineral density in systemic lupus erythematosus: a preliminary study with dual energy x ray absorptiometry. *Ann Rheum Dis*. 1990; 49(8): 624-6.

Domiciano DS, Figueiredo CP, Lopes JB, Kuroishi ME, Takayama L, Caparbo VF, Fuller P, Menezes PF, Scazufca M, Bonfa E, Pereira RM. Vertebral fracture assessment by dual X-ray absorptiometry: a valid tool to detect vertebral fractures in community-dwelling older adults in a population-based survey. *Arthritis Care Res*. 2013; 65(5): 809-15.

Duke, PM, Litt, IF, Gross, RT. Adolescents' self-assessment of sexual maturation. *Pediatrics*. 1980; 66: 918-20.

Farias Junior JC, Lopes AS, Mota J, Santos MP, Ribeiro JC, Hallal PC. Validity and reproductibility of a physical activity questionnaire for adolescents: adapting the Self-Administered Physical Activity checklist. *Rev Bras Epidemiol*. 2012; 15:198-210.

Fuller H, Fuller R, Pereira RMR. High Resolution Peripheral Quantitative Computed Tomography (HR-pQCT) for the assessment of morphological and mechanical bone parameters. *Rev Bras Reumatol*. 2015; 55(4): 352-62.

Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC. Vertebral Fracture Assessment using a semiquantitative method. *J Bone Miner Res.* 1993; 8: 1137-48.

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: 363-69.

Hansen M, Halberg P, Kollerup G, Pedersen-Zbinden B, Hørslev-Petersen K, Hyldstrup L, Lorenzen I. Bone metabolism in patients with systemic lupus erythematosus. Effect of disease activity and glucocorticoid treatment. *Scand J Rheumatol.* 1998; 27(3): 197-206.

Hernandez CJ, Beaupré GS, Carter DR. A theoretical analysis of the relative influences of peak BMD, age-related bone loss and menopause on the development of osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2003; 14: 843-47.

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

Huber AM, Gaboury I, Cabral DA, Lang B, Ni A, Stephure D, Taback S, Dent P, Ellsworth J, LeBlanc C, Saint-Cyr C, Scuccimarri R, Hay J, Lentle B, Matzinger M, Shenouda N, Moher D, Rauch F, Siminoski K, Ward LM; Canadian Steroid-Associated Osteoporosis in the Pediatric Population (STOPP) Consortium. Prevalent vertebral fractures among children initiating glucocorticoid therapy for the treatment of rheumatic disorders. *Arthritis Care Res.* 2010; 62(4): 516-26.

Ibanez D, Gladman DD, Urowitz MB. Adjusted mean Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index-2K is a predictor of outcome in SLE. *J Rheumatol.* 2005; 32: 824-27.

Kalla AA, Fataar AB, Jessop SJ, Bewerunge L. Loss of trabecular bone mineral density in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1993; 36:1726-34.

Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet.* 2002; 359(9321):1929-36.

Kirmani S, Christen D, van Lenthe GH, Fischer PR, Bouxsein ML, McCready LK, Melton LJ 3rd, Riggs BL, Amin S, Müller R, Khosla S. Bone structure at the distal radius during adolescent growth. *J Bone Miner Res.* 2009; 24(6):1033-42.

LeBlanc CM, Ma J, Taljaard M, Roth J Scuccimarri R, Miettunen P, Lang B, Huber AM, Houghton K, Jaremko JL, Ho J, Shenouda N, Matzinger MA, Lentle B, Stein R, Sbrocchi AM, Oen K, Rodd C, Jurencak R, Cummings EA, Couch R, Cabral DA, Atkinson S, Alos N, Rauch F, Siminoski K, Ward LM. Canadian Steroid-Associated Osteoporosis in the Pediatric Population (STOPP) Consortium. Incident vertebral fractures and risk factors in the first three years following glucocorticoid initiation among pediatric patients with rheumatic disorders. *J Bone Miner Res*. 2015; 30(9): 1667-75.

Lee C, Ramsey-Goldman R. Osteoporosis in systemic lupus erythematosus mechanisms. *Rheum Clin North Am*. 2005; 31:363-85.

Paggiosi MA, Eastell R, Walsh JS. Precision of high-resolution peripheral quantitative computed tomography measurement variables: influence of gender,examination site, and age. *Calcif Tissue Int*. 2014; 94(2):191-201.

Pineau CA, Urowitz MB, Fortin PJ, Ibanez D, Gladman DD. Osteoporosis in systemic lupus erythematosus: factors associated with referral for bone mineral density studies, prevalence of osteoporosis and factors associated with reduced bone density. *Lupus*. 2004; 13(6):436-41.

Regio P, Bonfá E, Takayama L, Pereira RM. The influence of lean mass in trabecular and cortical bone in juvenile onset systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2008; 17:787-92.

Rodd C, Lang B, Ramsay T, Alos N, Huber AM, Cabral DA, Scuccimarri R, Miettunen PM, Roth J, Atkinson SA, Couch R, Cummings EA, Dent PB, Ellsworth J, Hay J, Houghton K, Jurencak R, Larché M, LeBlanc C, Oen K, Saint-Cyr C, Stein R, Stephure D, Taback S, Lentle B, Matzinger M, Shenouda N, Moher D, Rauch F, Siminoski K, Ward LM. Canadian Steroid-Associated Osteoporosis in the Pediatric Population (STOPP) Consortium. Incident vertebral fractures among children with rheumatic disorders 12 months after glucocorticoid initiation: a national observational study. *Arthritis Care Res.* 2012; 64(1):122-31.

Rouster-Stevens KA, Klein-Gitelman MS. Bone health in pediatric rheumatic disease. *Curr Opin Pediatr.* 2005; 17:703-8.

Saad CG, Ribeiro AC, Moraes JC, Takayama L, Goncalves CR, Rodrigues MB, de Oliveira RM, Silva CA, Bonfa E, Pereira RM. Low sclerostin levels: a predictive marker of persistent inflammation in ankylosing spondylitis during anti-tumor necrosis factor therapy? *Arthritis Res Ther.* 2012; 14(5):R216.

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(1):40-7.

Sasimontongkul S, Bay BK, Pavol MJ. Bone contact forces on the distal tibia during the stance phase of running. *J Biomech.* 2007; 40(15):3503-9.

Seguro LP, Casella CB, Caparbo VF, Oliveira RM, Bonfa A, Bonfa E, Pereira RM. Lower P1NP serum levels: a predictive marker of bone loss after 1 year follow-up in premenopausal systemic lupus erythematosus patients. *Osteoporos Int*. 2015; 26(2):459-67.

Siminoski K, Lee KC, Jen H, Warshawski R, Matzinger MA, Shenouda N, Charron M, Coblentz C, Dubois J, Kloiber R, Nadel H, O'Brien K, Reed M, Sparrow K, Webber C, Lentle B, Ward LM; STOPP Consortium. Anatomical distribution of vertebral fractures: a comparison of pediatric and adult spine. *Osteoporos Int*. 2012; 23(7):1999-2008.

Stone KL, Seeley DG, Lui LY, Cauley JA, Ensrud K, Browner WS, Nevitt MC, Cummings SR. Osteoporotic Fractures Research Group. BMD at multiple sites and risk of fracture of multiple types: long-term results from the Study of Osteoporotic Fractures. *J Bone Miner Res*. 2003; 18(11):1947-54.

Tang XL, Griffith JF, Qin L, Hung VW, Kwok AW, Zhu TY, Kun EW, Leung PC, Li EK, Tam LS. SLE disease per se contributes to deterioration in bone mineral density, microstructure and bone strength. *Lupus*. 2013a; 22(11):1162-8.

Tang XL, Qin L, Kwok AW, Zhu TY, Kun EW, Hung VW, Griffith JF, Leung PC, Li EK, Tam LS. Alterations of bone geometry, density, microarchitecture, and biomechanical properties in systemic lupus erythematosus on long-term glucocorticoid: a case-control study using HR-pQCT. *Osteoporos Int*. 2013b; 24(6):1817-26.

Tang XL, Zhu TY, Hung VW, Qin L, Wong CK, Kun EW, Tam LS, Li EK. Increased organ damage associated with deterioration in volumetric bone density and bone microarchitecture in patients with systemic lupus erythematosus on longterm glucocorticoid therapy. *J Rheumatol*. 2012; 39(10):1955-63.

Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O, Foldes AJ, Garnero P, Griesmacher A, McClung M, Morris HA, Silverman S, Trenti T, Wahl DA, Cooper C, Kanis JA. IOF-IFCC Bone Marker Standards Working Group. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporos Int*. 2011; 22(2):391-420.

Viswanathan A, Sylvester FA. Chronic pediatric inflammatory diseases: Effects on bone. *Rev Endocr Metab Disord*. 2008; 9:107-22.

Wehner T, Claes L, Simon U. Internal loads in the human tibia during gait. *Clin Biomech*. 2009; 24(3):299-302.

Yee CS, Crabtree N, Skan J, Amft N, Bowman S, Situnayake D, Gordon C. Prevalence and predictors of fragility fractures in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2005; 64(1):111-3.

APÊNDICES

Apêndice A - Artigo submetido

De: "OSIN- Editorial Office" <em@editorialmanager.com>
Data: 20 de outubro de 2015 14:43:23 BRST
Para: "Rosa M R Pereira" <rosamariarp@yahoo.com>
Assunto: Major Revisions requested OSIN-D-15-00139R1
Responder A: "OSIN- Editorial Office" <jennyjoy.diego@springer.com>

Dear Prof. Pereira,

We have received the reports from our advisors on your manuscript, "Bone Impairment assessed by HR-pQCT in Juvenile-Onset Systemic Lupus Erythematosus", which you submitted to Osteoporosis International.

Based on the advice received, I have decided that your manuscript could be reconsidered for publication should you be prepared to incorporate further major revisions. When preparing your revised manuscript, you are asked to carefully consider the reviewer comments which can be found below, and submit a list of responses to the comments.

In order to submit your revised manuscript, please access the following web site:

<http://osin.edmgr.com/>

Your username is: RPereira

Your password is: available at this link

http://osin.edmgr.com/Default.aspx?pg=accountFinder.aspx&firstname=Rosa&lastname=Pereira&email_address=rosamariarp@yahoo.com

We look forward to receiving your manuscript with further revisions within 3 months.

Please make sure to submit your editable source files (i.e. Word, Tex).

With kind regards,
Jeri Nieves, PhD
Associate Editor

Bone Impairment assessed using HR-pQCT in Juvenile-Onset Systemic Lupus Erythematosus

JA Paupitz¹, GL Lima¹, JC Alvarenga¹, RM Oliveira², E Bonfa¹, RMR Pereira¹

¹Bone Metabolism Laboratory, Rheumatology Division, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brazil

²RDO Diagnosticos Medicos, São Paulo, Brazil

Corresponding author:

Rosa Maria Rodrigues Pereira

Faculdade de Medicina da USP, Reumatologia

Av Dr Arnaldo, 455, 3º andar, sala 3193

Sao Paulo - SP - Brazil, 01246-903

Phone number: +55 11 30618594; Fax: +55 11 30617490

e-mail: rosamariarp@yahoo.com

Abstract

Summary: High resolution peripheral quantitative computed tomography (HR-pQCT) analysis of female juvenile-onset systemic lupus erythematosus (JoSLE) patients revealed trabecular/cortical bone damage and reduced bone strength primarily at the distal radius compared to healthy controls. We demonstrated for the first time that JoSLE patients with vertebral fracture (VF) present trabecular impairment at the distal radius.

Introduction: This study investigated the volumetric bone mineral density (vBMD), microarchitecture and biomechanical features at the distal radius and tibia using HR-pQCT and laboratory bone markers in JoSLE patients compared to controls to determine whether this method discriminates JoSLE patients with or without VF.

Methods: We compared 56 female JoSLE patients to age- and Tanner-matched healthy controls. HR-pQCT was performed at the distal radius and tibia. Serum levels of the amino-terminal pro-peptide of type I collagen, the C-terminal telopeptide of type I collagen, intact parathormone, sclerostin and 25OHD were evaluated. Vertebral fractures (VF) were analyzed using VFA-DXA (Genant's method).

Results: Reduced density and strength parameters and microarchitecture alterations of cortical and trabecular bones were observed in JoSLE patients compared to controls, primarily at the distal radius ($p < 0.05$). Patients with VF exhibited a significant decrease in trabecular bone parameters solely at the distal radius (Total.BMD, $p = 0.034$; Trabecular.BMD[Tb.BMD], $p = 0.034$; BV/TV, $p = 0.034$; Apparent modulus, $p = 0.039$) and higher scores for disease damage (SLICC/ACR-DI, $p = 0.002$). Bone metabolism markers were similar in all groups. Logistic regression analysis of parameters that were significant in univariate analysis revealed that Tb.BMD (OR: 0.98, 95%CI 0.95-0.99, $p = 0.039$) and SLICC/ACR-DI (OR: 7.37, 95%CI 1.75-30.97, $p = 0.006$) were independent risk factors for VF.

Conclusion: In conclusion, this study is the first demonstration of bone microstructure and strength deficits in JoSLE patients, particularly at the distal radius. Our results demonstrated that VF was associated with trabecular radius compromise and emphasized the potential detrimental effect of disease damage in this condition.

Key-Words: HR-pQCT, Juvenile systemic lupus erythematosus, children and adolescents, trabecular, vertebral fractures

Introduction

Systemic lupus erythematosus (SLE) patients are prone to develop fragility fractures. Inflammation, decreased physical activity, delay of menarche, premature menopause, sun avoidance and medications, such as glucocorticoids (GC), affect bone health in these patients [1].

Bone mass reduction in children and adolescents is particularly important because of skeletal development, with a consequent suboptimal accrual of peak bone mass and possible increase in the risk for osteoporotic fractures in adulthood [2,3].

High resolution peripheral quantitative computed tomography (HR-pQCT) is a new non-invasive method to assess bone microarchitecture and strength. This imaging tool allows the evaluation of volumetric bone mineral density (vBMD) and assessments of cortical and trabecular bone structure. The microfinite element analysis using HR-pQCT predicts biomechanical properties (e.g., bone strength) [4]. This methodology is important in children and adolescents bone evaluations because the volumetric density is more precise than the areal density obtained using DXA [5]. Microarchitecture analysis using this methodology is particularly relevant in juvenile lupus patients to provide a better understanding of the trabecular and cortical bone compromises that occur as a result of delayed menarche and GC use. However, no studies evaluated bone impairment using HR-pQCT in juvenile-onset SLE (JoSLE) patients.

Therefore, this case control study assessed alterations in bone volumetric density, microarchitecture and strength using HR-pQCT and laboratory bone markers in female JoSLE patients and compared the results to age-matched healthy controls to determine whether this method discriminates vertebral fractures *vs.* non-fracture in JoSLE patients.

Patients and Methods

Patients. A total of 56 consecutive female JoSLE patients who regularly attended the outpatient rheumatology clinic of University of São Paulo were screened during April 2012 until December 2013. All patients fulfilled the 1997 American College of Rheumatology (ACR) revised criteria for the classification of SLE [6]. Patients were excluded if they exhibited any of the following factors: (1) a known metabolic disorder that could affect bone metabolism [3 patients: renal clearance ≤ 30 ml/min; asthma and diabetes type 1]; (2) pregnant or breastfeeding [8 patients]; or (3) previous treatment with bisphosphonates [3 patients]. The control group consisted of 56 female age- and Tanner-matched healthy relatives (siblings or cousins) of the patients to minimize genetic and environmental differences between individuals. All relatives agreed to enroll in the control group (100% response rate). The Local Ethics Committee approved the study, and written informed consent was obtained from all participants or their legal guardians.

Demographic, Anthropometric and Clinical Data. Age, body weight, body height, age of menarche, Tanner's pubertal stage [7], smoking habit, physical activity [8], history of previous fracture and family history of osteoporosis/fracture were collected during the interview. Body Mass Index (BMI) was calculated for each participant. Disease duration, treatment with chloroquine/hydroxychloroquine, immunosuppressants (e.g., mycophenolate mofetil, azathioprine, cyclosporine and cyclophosphamide) and glucocorticoids (current dose, cumulative dose in the previous year and highest dose used) were collected from an electronic chart review. Contraceptive and antiepileptic use and calcium/vitamin D supplement use were also recorded. Disease activity was assessed using the SLE Disease Activity Index 2000 (SLEDAI-2K), and the value shown is the average SLEDAI during the last year [9]. Cumulative organ damage was assessed using the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index (SLICC/ACR-DI) [10]. The item fractures/osteoporosis was not included in this score because it is confounding factor related to bone compromise.

Vertebral Fracture Assessment (VFA) and Areal Bone Mineral Density (aBMD). VFA and aBMD measures of lumbar spine (L1-L4), total hip, total body without head and 1/3 distal wrist were analyzed using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) equipment in all participants (Hologic QDR4500; Hologic, Bedford, MA). Thoracic and lumbar (T4-L4) lateral radiographs were performed using VFA-DXA according to a standardized protocol, as previously described by our group [11, 12]. Vertebral visibility in the upper thoracic spine (T4-T7) is the main limitation of VFA because of restricted image resolution of the DXA device in this region [11]. Assessments of vertebral fractures were performed using the method described by Genant et al. [13]. This method is a semiquantitative method of identifying and grading vertebral fractures using a visual estimation of loss of vertebral height relative to adjacent normal-appearing vertebrae. A vertebral fracture was defined as a reduction of at least 20% of vertebral body height. This method grades vertebrae on a scale of 0 to III, where grade 0 = normal, grade I = 20-25% reduction in height, grade II = 25-40% reduction in height and grade III = 40% reduction in height. Loss of height could occur in a wedge, biconcave or crush pattern if anterior, middle or posterior height was compromised [13, 14].

Microarchitecture and Volumetric Bone Mineral Density (vBMD) Measurements. Bone microarchitecture and vBMD were evaluated using an HR-pQCT device (Xtreme CT Scanco Medical AG, Brüttisellen, Switzerland) at the non-dominant distal radius and tibia. This system uses a two-dimensional detector array in combination with a 0.08-mm point-focus x-ray tube, which enables the simultaneous acquisition of a stack of parallel CT slices with a nominal resolution (voxel size) of 82 μm . The following settings were used: effective energy of 60 kVp, x-ray tube current of 95 mA, and matrix size of 1536 x 1536. A total of 110 CT slices were obtained at each skeletal site, which provided a three-dimensional representation of approximately 9 mm in the axial direction. The patient's arm or leg was immobilized during the examination in an anatomically formed carbon fiber shell. An antero-posterior scout view was used to define the measurement region. Briefly, a reference line was manually placed at the endplate of the radius and tibia. The first CT slice was 9.5 mm and 22.5 mm proximal to the reference line for the distal radius and

distal tibia, respectively. The effective dose was less than 3 μSv per measurement. Exam time was approximately 3 min. A single operator performed all HR-pQCT scans. The entire volume of interest (VOI) was automatically separated into cortical and trabecular regions using a threshold-based algorithm. The threshold used to discriminate cortical from trabecular bone was set to one third of the apparent cortical bone density value (Ct.BMD). Mean cortical thickness (Ct.Th) was defined as the mean cortical volume divided by the outer bone surface. Trabecular bone density (Tb.BMD) in mg HA/cm^3 was computed as the average mineral density within the trabecular VOI. Trabecular bone volume (BV) fraction [BV/trabecular volume (TV), %] was derived from trabecular density, assuming that fully mineralized bone has a mineral density of 1.2 g HA/cm^3 [*i.e.*, $\text{BV/TV (\%)} = 100 \times (\text{Tb.BMD (mgHA/cm}^3)/1200 \text{ mg HA/cm}^3)$]. A thickness-independent algorithm was used to assess trabecular structure because the thickness of individual trabeculae cannot be measured accurately due to partial volume effects. First, a mid-axis transformation method was used to identify trabecular elements, and the distance between these elements was assessed three dimensionally using the distance transform method [4, 15]. Trabecular number (Tb.N, mm^{-1}) was defined as the inverse of the mean spacing of the mid-axes, and it is truly three-dimensional and does not depend on *a priori* assumptions of the plate- or rod-like nature of the underlying structure. Trabecular thickness (Tb.Th, mm) and separation (Tb.Sp, mm) were derived from BV/TV and Tb.N using standard methods from histomorphometry (*i.e.*, $\text{Tb.Th} = (\text{BV/TV}) / \text{Tb.N}$ and $\text{Tb.Sp} = (1 - \text{BV/TV}) / \text{Tb.N}$). Distance transformation techniques also enabled the calculation of intra-individual distribution of separation (Tb.Sp.SD, mm), which was quantified by the SD of the separation, a parameter that reflects the heterogeneity of the trabecular network [15].

All of our patients already achieved menarche and exhibited a late Tanner stage (≥ 3). Therefore, we followed the instructions of the manufacturer for the volume region of interest (VOI), as described above [4, 15, 17].

The following outcome variables were used in the analyses:

- (1) volumetric density parameters (g HA/cm^3) for entire (Tt.BMD), trabecular (Tb.BMD) and cortical (Ct.BMD) regions;

(2) trabecular microstructure parameters for trabecular bone volume fraction (BV/TV, %), thickness (Tb.Th, mm), number (Tb.N, mm^{-1}), separation (Tb.Sp, mm) and intra-individual distribution of separation (Tb.Sp.SD, mm); and

(3) cortical microstructure parameters for cortical thickness (Ct.Th, mm).

The precision of HR-pQCT demonstrated a coefficient of variation of 0.93-1.41% at the distal radius and 0.25-1.16% at tibia for density measurements and 1.49-7.59% at the distal radius and 0.78-6.35% at tibia for morphometric measurements, which are similar to the literature [16].

Microfinite Element Analysis (μ FEA). Linear μ FE models of the distal radius and tibia were created directly from the HR-pQCT images using software provided by the manufacturer (Scanco Medical AG) to assess biomechanical bone strength.

A Young's modulus of 10 GPa and Poisson's ratio of 0.3 were assigned to each element. Bone strength (i.e., failure load [N, newtons]) based on biomechanical properties was derived by scaling the resulting load from a test simulating 1% compression, such that 2% of all elements had an effective strain >7000 microstrain.

The following biomechanical properties were analyzed using μ FEA: stiffness (S, kN/mm), estimated failure load (F.ult, N) and apparent modulus (E.app, N/mm^2) [15].

Laboratory Assessment of Bone Markers. Fasting blood samples were collected from all participants at the time of the HR-pQCT exam and stored at -80°C for further analysis. A serum bone formation marker, amino-terminal pro-peptide of type I collagen (P1NP), a serum bone resorption marker, C-terminal telopeptide of type I collagen (CTX) and intact parathormone (iPTH) were analyzed using an automated Roche electrochemiluminescence system (E411, Roche Diagnostics®, Mannheim, Germany). The following coefficients of variation (CVs) were obtained: 2.2% for P1NP, 2.5% for CTX, and 2.3-5.1% for iPTH [12]. Serum sclerostin level was measured using a commercial ELISA KIT (Biomedica, Vienna, Austria), and the intra- and inter-assay CVs were 5% and 6%, respectively [18]. The serum concentration of 25-hydroxyvitamin D (25OHD) was measured using a radioimmunoassay (DiaSorin, Stillwater, MN, USA) with a lower detection limit of 5

ng/mL. The intra- and inter-assay CVs in our laboratory were 10.5 and 17.8%, respectively. All assays were performed according to the manufacturers' instructions.

Laboratory Assessment of Hormones. Serum follicle stimulating (FSH), luteinizing hormone (LH) and estradiol (E) were evaluated in all patients and controls. All assays were performed using the Cobas and 411 Immunoassay Analyzer, Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Germany), according to the manufacturer's instructions. The intra- and inter-assay CVs were less than 6.0% [18].

Statistical Analysis. Results are expressed as means $\pm$ standard deviation or medians (interquartile range) for continuous variables or percentages for categorical variables. JoSLE patients vs. healthy controls, JoSLE patients with VF vs. patients without VF and JoSLE patients without VF vs. healthy controls were compared using the *t*-test (normal distribution) or Mann Whitney test (non-normal distribution) for continuous variables and the chi-squared test or Fisher's exact test for categorical variables. HR-pQCT parameters were also compared after adjusting variables with significance in the univariate analysis (e.g., menarche age, contraceptive use, menstrual regularity, physical activity and 25OHD serum levels) and for those variables that may interfere with bone metabolism (e.g., age, body weight and GC use) when appropriate. Logistic regression models were performed to identify factors that were independently associated with vertebral fractures (dependent variables) using variables that were significant in univariate analyses (SLICC/ACR-DI and distal radius HR-pQCT parameters: Tt.BMD, Tb.BMD, BV/TV, and E.app). HR-pQCT parameters were sequentially added to the regression analysis because collinearity existed between these parameters, and the best models were selected. Statistical significance was accepted for *p*-values less than 0.05. Analyses were conducted using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS for Windows, 20.0, Chicago, IL, USA).

Results

JoSLE Patients and Controls

Table 1 shows the demographic, anthropometric and clinical characteristics of patients and healthy controls. There were no differences between the two groups in age, height, weight, BMI and Tanner stage. Most patients and controls were white (>90%). The menarche age of patients with JoSLE was significantly higher than controls (12.7 ± 1.5 vs. 12.1 ± 1.3 years, $p=0.032$), and controls had a higher frequency of regular menstrual cycle ($p=0.003$). JoSLE patients and controls exhibited comparable serum FSH (4.92 ± 2.11 vs. 4.37 ± 3.04 IU/L, $p=0.274$), LH (8.24 ± 9.60 vs. 7.11 ± 14.37 IU/L, $p=0.630$) and E levels (82.06 ± 76.29 vs. 66.99 ± 74.71 pg/mL, $p=0.297$). Almost 50% of control subjects were using contraceptives compared to 25% of JoSLE patients ($p=0.021$). Current smoking habit, history of fracture, family history of osteoporosis and fracture were not significantly different between the two groups ($p>0.05$). Patients exhibited a lower frequency of physical exercise than controls ($p<0.05$).

JoSLE patients had an average disease duration of 68.5 months and mild disease activity as reflected by the average SLEDAI score in the last year of 4.6. Eleven patients (19.6%) had at least one organ damage (SLICC/ACR-DI ≥ 1), excluding fractures and osteoporosis. Neuropsychiatric damage was the most common (66.6%), including cognitive impairment, seizures requiring therapy, cerebrovascular accident and peripheral neuropathy. Seventy percent of patients were currently taking GC with a mean daily dose of 16 mg. The mean cumulative dose in the previous year was 6.79 g. Almost 80% of patients received immunosuppressants, and over 50% received calcium and vitamin D supplements.

JoSLE patients presented lower levels of BMD and Z-scores in areal BMC using DXA in the lumbar spine (0.860 ± 0.110 vs. 0.940 ± 0.090 g/cm², $p<0.001$; -1.58 ± 1.13 vs. 0.53 ± 0.89 , $p<0.001$), total hip (0.820 ± 0.120 vs. 0.910 ± 0.100 g/cm², $p=0.005$; 0.82 ± 0.12 vs. 0.91 ± 0.10 , $p=0.005$), total body without head (0.840 ± 0.070 vs. 0.900 ± 0.050 g/cm², $p=0.001$; -1.75 ± 0.92 vs. -0.57 ± 0.83 , $p=0.002$) and 1/3 distal wrist (0.640 ± 0.050 vs. 0.670 ± 0.040 g/cm², $p=0.046$; -0.71 ± 0.84 vs. -0.15 ± 0.76 , $p=0.003$) compared to healthy controls. Nonvisible vertebrae on VFA scans were mostly located in the T4–T7 (140 [62.5%] of 224) region, and

96.83% of the vertebral bodies (488 of 504) in the T8-L4 segment had good visibility to assess the presence of fractures. Twelve patients (21.4%) had vertebral fractures according to semiquantitative methods [10]. All fractures were asymptomatic and located in the lower thoracic and lumbar region: L3 (5 fractures), T11 (4 fractures), T12 (3 fractures), L4 (3 fractures), T10 (1 fracture), L1 (1 fracture), and L2 (1 fracture). Most vertebral fractures were grade I (78.9%) and exhibited a biconcave (68.5%) or wedge (31.5%) pattern.

No differences were observed in bone turnover markers in JoSLE patients compared with healthy controls: CTX levels (0.572 ± 0.278 vs. 0.525 ± 0.332 ng/mL, $p=0.428$), P1NP levels (102.33 ± 75.88 vs. 101.40 ± 76.74 ng/mL, $p=0.950$), iPTH (32.29 ± 16.20 vs. 34.82 ± 17.64 pg/mL, $p=0.437$), and sclerostin serum levels (23.95 ± 11.14 vs. 26.87 ± 12.13 pmol/L, $p=0.190$). Higher levels of 25OHD were observed in JoSLE patients compared to controls (23.14 ± 6.86 vs. 20.17 ± 7.46 ng/mL, $p=0.034$).

JoSLE Patients: Presence of Vertebral Fractures (VF) vs. Absence of VF

Further analysis of patients with and without vertebral fractures (VF) revealed no differences in age, menarche age, BMI, Tanner stage, menstrual regularity, smoking habit, previous history of fractures, previous familiar history of osteoporosis and fractures, physical activity, disease duration, SLEDAI scores and GC use. Patients with VF presented higher SLICC/ACR-DI scores (Table 2).

No difference was observed in hormonal status between JoSLE patients with and without VF: FSH (4.01 ± 1.80 vs. 5.17 ± 2.14 IU/L, $p=0.092$), LH (5.06 ± 2.44 vs. 9.12 ± 10.64 IU/L, $p=0.197$) and E levels (49.04 ± 30.00 vs. 91.27 ± 82.76 pg/mL, $p=0.090$).

JoSLE patients with VF presented lower values of lumbar spine areal BMD using DXA (0.800 ± 0.076 vs. 0.870 ± 0.113 g/cm², $p=0.048$) but no difference in lumbar spine Z-scores (-2.07 ± 0.87 vs. -1.44 ± 1.17 , $p=0.091$) compared to patients without VF. No significant difference was observed in BMD and Z-scores in total hip (0.767 ± 0.122 vs. 0.833 ± 0.111 g/cm², $p=0.081$; -1.68 ± 1.13 vs. -1.10 ± 0.97 , $p=0.080$), total body without head (0.811 ± 0.040 vs. 0.846 ± 0.075 g/cm², $p=0.123$; -1.99 ± 0.64 vs. -1.67 ± 0.99 , $p=0.402$) and 1/3 distal wrist (0.646 ± 0.043 vs. 0.641 ± 0.005 g/cm², $p=0.771$; -0.58 ± 0.89 vs. -0.75 ± 0.84 , $p=0.563$).

No differences were observed in bone turnover markers in JoSLE patients with and without VF: CTX levels (0.682 ± 0.257 vs. 0.541 ± 0.279 ng/mL, $p=0.122$), P1NP levels (126.67 ± 101.60 vs. 95.37 ± 66.71 ng/mL, $p=0.210$), iPTH (31.15 ± 12.92 vs. 32.62 ± 37.14 pg/mL, $p=0.785$), sclerostin serum levels (23.21 ± 8.80 vs. 24.16 ± 11.77 pmol/L, $p=0.190$) and 25OHD levels (22.25 ± 6.93 vs. 23.38 ± 6.90 ng/mL, $p=0.618$).

HR-pQCT Parameters

JoSLE patients presented lower values compared to healthy controls at the distal radius of volumetric bone density parameters (Tt.BMD, $p=0.001$; Tb.BMD, $p=0.030$ and Ct.BMD, $p=0.017$), structural parameters (BV/TV, $p=0.029$; Tb.Th, $p=0.011$ and Ct.Th, $p<0.001$) and finite element parameters (S, $p=0.006$; F.ult, $p=0.049$ and E.app, $p<0.001$) (Table 3, p-values adjusted). JoSLE patients presented lower values of cortical thickness (Ct.Th, $p=0.039$) and finite element parameters (S, $p=0.019$ and F.ult, $p=0.013$) in tibia analysis compared to healthy controls (Table 3, p-values adjusted).

JoSLE patients with VF presented lower levels of HR-pQCT parameters at the distal radius, including volumetric density (Tt.BMD and Tb.BMD), structural parameters (BV/TV) and apparent modulus (E.app), compared to JoSLE without VF (Table 3, p-values adjusted*). No differences in HR-pQCT parameters were observed at the tibial site (Table 3, p-values adjusted*).

JoSLE patients without VF exhibited lower values of volumetric bone density (Tt.BMD, $p=0.010$ and Ct.BMD, $p=0.041$), cortical thickness (Ct.Th, $p=0.002$) and finite element analysis (S, $p<0.001$; F.ult, $p<0.001$ and E.app, $p=0.002$) at the distal radius compared to healthy controls. Lower values of finite element analysis (S, $p=0.042$ and F.ult, $p=0.029$) were observed at the tibial site in JoSLE patients without VF compared to healthy controls (Table 3, p-values adjusted). The power of the sample at the distal radius for Tb.BMD was 89% and 86% for Ct.BMD.

Logistic regression analysis, including SLICC/ACR-DI and HR-pQCT parameters that were significant in univariate analysis, revealed that Tb.BMD (OR: 0.98, 95%CI 0.95-0.99, $p=0.039$) and SLICC/ACR-DI (OR: 7.37, 95%CI 1.75-30.97, $p=0.006$) were independent risk factors for VF. A per unit change for an increase in parameter analysis was performed, and an increase in Tb.BMD was a protective factor (OR<1) for VF (OR= 0.98), and an increase in SLICC/ACR-DI>1 was a risk factor for VF (OR=7.37).

Discussion

This study is the first study to evaluate bone health in young JoSLE patients using HR-pQCT and demonstrated trabecular, cortical and strength impairment primarily at the distal radius. We further demonstrated that VF in JoSLE patients was associated with trabecular alterations at the distal radius.

HR-pQCT is a new, noninvasive, rapid procedure with a relatively low radiation dose that accurately evaluates microstructure parameters, volumetric bone density, and bone strength. Previous studies demonstrated the precision of HR-pQCT in adult SLE patients [19] and healthy children and adolescents with distal radius fractures [20].

We provide new data using this methodology and demonstrated lower levels of volumetric density parameters and microstructural and strength compromise in JoSLE patients compared to young healthy controls. These findings may be secondary to ovarian dysfunction because we observed a higher frequency of delayed menarche and irregular menstrual cycles in JoSLE patients, but E levels were comparable at study entry. Alternatively, the decreased physical activity in JoSLE patients may have contributed to bone health alterations [1].

Antiepileptic drugs are associated with an imbalance in bone metabolism, [21] but no difference was observed between JoSLE patients who used this medication in this study, which may be because of the low number of patients who used this drug.

Low vitamin D levels secondary to reduced sun exposure are expected in these patients because of photosensitivity and physician recommendations [22], and this reduction may be an additional risk for osteoporosis in SLE. However, vitamin D concentrations in our JoSLE patients were even higher than controls because of vitamin D supplementation.

Notably, bone trabecular and cortical parameters were more affected at the distal radius than tibia. We hypothesized that this finding was related to substantial differences in the forces experienced between skeletal sites. Long bone loading is generally a function of the forces applied during daily activity [23,24], which was preserved in most JoSLE patients. In contrast, the wrist experiences smaller forces in

axial compression during active motion [25], which may be not sufficient to counteract the bone deleterious effects of the disease and drugs. The lack of differences at the tibial site may not be because of a measurement error because tibial measurements tended to be more precise than radial measurements [26].

Remarkably, we identified a high prevalence of VFs in our JoSLE patients, primarily at lower thoracic and lumbar sites, as previously reported [27-32]. This complication was specifically associated with distal radius deterioration of trabecular density and microarchitecture.

Traditional risk factors are associated with bone alterations in children and adolescents, such as pubertal status and sexual hormones [1, 33-35], which did not differ between the two groups of JoSLE patients. Other factors, such as smoking habit, previous history of fractures and family history of osteoporosis/fractures [1], were also similar between the two groups, which may be due to the small number of the patients enrolled in the present study.

No significant differences in bone parameters in the use of GCs were found in the patients with VF compared to patients without VF, such as cumulative dose, current dose and maximum dose. Other research in SLE patients supports this finding [36, 37], but it is in disagreement with others that demonstrated an association between GC use and low aBMD and fractures [28, 38, 39]. The reasons for this association are not clear, but it may be related to population characteristics, such as patient age, disease features and treatment strategy. The comparable current/maximum GC dose and vitamin D levels are the most likely explanation for the similar bone turnovers markers in patients with and without VF.

There is a lack of data on the role of bone markers in SLE despite the fact that bone markers were recently recommended in all future studies evaluating the prediction of fracture risk and the monitoring of osteoporosis treatment [40]. Some studies investigated the role of bone turnover markers (BTMs) in SLE patients. Bhattoa et al. [41] reported a significant decrease in CTX levels at baseline and all subsequent appointments after one year of transdermal estrogen replacement therapy in postmenopausal SLE patients. Our group previously reported that lower PINP level at baseline in premenopausal SLE patients was an independent risk factor for BMD loss [12]. BTMs are an additional tool to evaluate disorders of bone

metabolism, but international reference standards of measurement are required, and reference ranges are not universally defined. No differences in BTM serum levels were found between JoSLE patients and controls in our study and JoSLE patients with and without VF.

No association was found between disease activity (SLEDAI) and bone quality or strength in adult SLE patients [42-44]. This finding may be related to the measures of disease activity, which are related to a short period of time and limits its utility for the prediction of long-term outcomes, such as bone quality.

The observed independent association of VF with damage score suggests that primarily disease severity and/or treatment contribute to this bone complication, even with the exclusion of parameter scores associated with bone health (i.e., fracture/osteoporosis). It is well established that a high damage index (SLICC/ACR-DI score) in adult SLE patients is associated with a reduction in aBMD [45] and bone microstructure [42]. Organ damage is a summary of the long-term injury of the disease itself and its treatment [10].

Trabecular parameters at the distal radius using HR-pQCT were also independent risk factors for vertebral fractures, and these data suggest that this non-invasive evaluation may help identify JoSLE patients with a high risk for VF.

We should identify some limitations of this research. First, this study is a case control study, and further longitudinal studies are necessary to confirm our data. Second, we analyzed peripheral sites (distal radius and tibia) but not a central site (vertebrae) using HR-pQCT. Third, we did not evaluate the total cumulative GC dose, but the last year cumulative dose.

In conclusion, we provide novel data demonstrating bone microstructure alterations, particularly at the distal radius in JoSLE patients. Our results demonstrated that vertebral fracture was associated with trabecular radius compromise, which emphasizes the potential detrimental effect of disease damage in this condition.

Acknowledgments

We thank Prof J. M. Burnham, Pediatric Rheumatology, The Children's Hospital of Philadelphia, University of Philadelphia, USA for revising the paper and Rogerio Ruscuito, PhD for the statistical analysis.

Conflict of interest statement: The authors declare no conflicts of interest.

Funding statement

This study was supported by grants from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ #472754/2013-0), individual grants (CNPQ #301805/2013-0 to RMRP and #301411/2009-3 to EB) and Federico Foundation grants (to RMRP and EB).

References

1. Lee C, Ramsey-Goldman R (2005) Osteoporosis in systemic lupus erythematosus mechanisms. *Rheum Clin North Am* 31: 363-385 viii.
2. Burnham JM, Leonard MB (2004) Bone disease in pediatric rheumatologic disorders. *Curr Rheumatol Rep* 6(1): 70-8. Review.
3. Hernandez CJ, Beaupré GS, Carter DR (2003) A theoretical analysis of the relative influences of peak BMD, age-related bone loss and menopause on the development of osteoporosis. *Osteop Int* 14: 843-47.
4. Boutroy S, Bouxsein ML, Munoz F, Delmas PD (2005) *In vivo* Assessment of Trabecular bone Microarchitecture by High-Resolution Peripheral Quantitative Computed Tomography. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 6508-15.
5. Santiago RA, Silva CA, Caparbo VF et al. (2008) Bone mineral apparent density in juvenile dermatomyositis: the role of lean body mass and glucocorticoid use. *Scand J Rheumatol* 37(1): 40-7.
6. Tan EM, Cohen AS, Fries JF et al. (1982) The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 25: 1271-7.
7. Duke, PM, Litt, IF, Gross, RT (1980) Adolescents' self-assessment of sexual maturation. *Pediatrics* 66: 918-20.
8. Farias Junior JC, Lopes AS, Mota J et al. (2012) Validity and reproducibility of a physical activity questionnaire for adolescents: adapting the Self-Administered Physical Activity checklist. *Rev Bras Epidemiol* 15:198-210.
9. Ibanez D, Gladman DD, Urowitz MB (2005) Adjusted mean Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index-2K is a predictor of outcome in SLE. *J Rheumatol* 32: 824-27.
10. Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C et al. (1996) The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 39: 363-69.
11. Domiciano DS, Figueiredo CP, Lopes JB et al. (2013) Vertebral fracture assessment by dual X-ray absorptiometry: a valid tool to detect vertebral fractures in community-dwelling older adults in a population-based survey. *Arthritis Care Res* 65(5): 809-15.

12. Seguro LP, Casella CB, Caparbo VF et al. (2015) Lower P1NP serum levels: a predictive marker of bone loss after 1 year follow-up in premenopausal systemic lupus erythematosus patients. *Osteoporos Int* 26(2): 459-67.
13. Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC (1993) Vertebral Fracture Assessment using a semiquantitative method. *J Bone Miner Res* 8: 1137-48.
14. Siminoski K, Lee KC, Jen H et al. (2012) Anatomical distribution of vertebral fractures: a comparison of pediatric and adult spine STOPP Consortium. *Osteoporos Int* 23(7): 1999-2008.
15. Fuller H, Fuller R, Pereira RMR (2015) High Resolution Peripheral Quantitative Computed Tomography (HR-pQCT) for the assessment of morphological and mechanical bone parameters. *Rev Bras Reumatol* 55(4): 352-62.
16. Burghardt AJ, Pialat JB, Kazakia GJ et al. (2013) Multicenter precision of cortical and trabecular bone quality measures assessed by high-resolution peripheral quantitative computed tomography. *J Bone Miner Res* 28(3): 524-36.
17. Burrows M, Liu D, Perdios A et al. (2010) Assessing bone microstructure at the distal radius in children and adolescents using HR-pQCT: a methodological pilot study. *J Clin Densitom* 13(4): 451-5.
18. Saad CG, Ribeiro AC, Moraes JC et al. (2012) Low sclerostin levels: a predictive marker of persistent inflammation in ankylosing spondylitis during anti-tumor necrosis factor therapy? *Arthritis Res Ther* 14(5): R216.
19. Tang XL, Griffith JF, Qin L et al. (2013) SLE disease per se contributes to deterioration in bone mineral density, microstructure and bone strength. *Lupus* 22(11): 1162-8.
20. Kirmani S, Christen D, van Lenthe GH et al. (2009) Bone structure at the distal radius during adolescent growth. *J Bone Miner Res* 24(6): 1033-42.
21. Beerhorst K, Tan IY, De Krom M et al. (2013) Antiepileptic drugs and high prevalence of low bone mineral density in a group of inpatients with chronic epilepsy. *Acta Neurol Scand* 128(4): 273-80.
22. Arya V, Bhambri R, Godbole MM, Mithal A (2004) Vitamin D status and its relationship with bone mineral density in healthy Asian Indians. *Osteoporos Int* 15(1): 56-61.

23. Sasimontonkul S, Bay BK, Pavol MJ (2007) Bone contact forces on the distal tibia during the stance phase of running. *J Biomech* 40(15): 3503-9.
24. Wehner T, Claes L, Simon U (2009) Internal loads in the human tibia during gait. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 24(3): 299-302.
25. Burr BD, Matrtin RB (1983) The effects of composition, structure and age on the torsional properties of the human radius. *J Biomech* 16: 603-608.
26. Paggiosi MA, Eastell R, Walsh JS (2014) Precision of high-resolution peripheral quantitative computed tomography measurement variables: influence of gender,examination site, and age. *Calcif Tissue Int* 94(2): 191-201.
27. Regio P, Bonfá E, Takayama L, Pereira RM (2008) The influence of lean mass in trabecular and cortical bone in juvenile onset systemic lupus erythematosus. *Lupus* 17: 787-92.
28. Borba VZ, Matos PG, da Silva Viana PR et al. (2005) High prevalence of vertebral deformity in premenopausal systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 14(7): 529-33.
29. Almedhed K, Hetényi S, Ohlsson C et al. (2010) Prevalence and risk factors of vertebral compression fractures in female SLE patients. *Arthritis Res Ther* 12(4): R153 *on line*.
30. LeBlanc CM, Ma J, Taljaard M et al. (2015) Canadian STeroid-Associated Osteoporosis in the Pediatric Population (STOPP) Consortium. Incident Vertebral Fractures and Risk Factors in the First Three Years Following Glucocorticoid Initiation Among Pediatric Patients With Rheumatic Disorders. *J Bone Miner Res* 30(9): 1667-75.
31. Rodd C, Lang B, Ramsay T et al. (2012) Canadian Steroid-Associated Osteoporosis in the Pediatric Population (STOPP) Consortium. Incident vertebral fractures among children with rheumatic disorders 12 months after glucocorticoid initiation: a national observational study. *Arthritis Care Res* 64(1): 122-31.
32. Huber AM, Gaboury I, Cabral DA et al. (2010) Canadian Steroid-Associated Osteoporosis in the Pediatric Population (STOPP) Consortium. Prevalent vertebral fractures among children initiating glucocorticoid therapy for the treatment of rheumatic disorders. *Arthritis Care Res* 62(4): 516-26.

33. Rouster-Stevens KA, Klein-Gitelman MS (2005) Bone health in pediatric rheumatic disease. *Curr Opin Pediatr* 17: 703-708.
34. Viswanathan A, Sylvester FA (2008) Chronic pediatric inflammatory diseases: Effects on bone. *Rev Endocr Metab Disord* 9: 107-122.
35. Bultink IEM (2012) Osteoporosis and Fractures in Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Care & Research* 64 (1): 2-8.
36. Tang XL, Qin L, Kwok AW et al. (2013) Alterations of bone geometry, density, microarchitecture, and biomechanical properties in systemic lupus erythematosus on long-term glucocorticoid: a case-control study using HR-pQCT. *Osteoporos Int* 24(6): 1817-26.
37. Bultink IE, Lems WF, Kostense PJ et al. (2005) Prevalence of and risk factors for low bone mineral density and vertebral fractures in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 52(7): 2044-50.
38. Kalla AA, Fataar AB, Jessop SJ, Bewerunge L (1993) Loss of trabecular bone mineral density in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 36: 1726-1734.
39. Yee CS, Crabtree N, Skan J et al. (2005) Prevalence and predictors of fragility fractures in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 64(1): 111-3.
40. Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O et al. (2011) IOF-IFCC Bone Marker Standards Working Group. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporos Int* 22(2): 391-420.
41. Bhattoa HP, Bettembuk P, Balogh A et al. (2004) The effect of 1-year transdermal estrogen replacement therapy on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in osteopenic postmenopausal systemic lupus erythematosus patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Osteoporos Int* 15(5): 396-404.
42. Tang XL, Zhu TY, Hung VW et al. (2012) Increased organ damage associated with deterioration in volumetric bone density and bone microarchitecture in patients with systemic lupus erythematosus on longterm glucocorticoid therapy. *J Rheumatol* 39(10): 1955-63.

43. Dhillon VB, Davies MC, Hall ML et al. (1990) Assessment of the effect of oral corticosteroids on bone mineral density in systemic lupus erythematosus: a preliminary study with dual energy x ray absorptiometry. *Ann Rheum Dis* 49(8): 624-6.
44. Hansen M, Halberg P, Kollerup G, et al. (1998) Bone metabolism in patients with systemic lupus erythematosus. Effect of disease activity and glucocorticoid treatment. *Scand J Rheumatol* 27(3): 197-206.
45. Pineau CA, Urowitz MB, Fortin PJ et al. (2004) Osteoporosis in systemic lupus erythematosus: factors associated with referral for bone mineral density studies, prevalence of osteoporosis and factors associated with reduced bone density. *Lupus* 13(6): 436-41.

Apêndice B - Trabalho aceito para apresentação em congresso

Gmail - RE: ACR/ARHP Annual Meeting Final Instructions - Speakers <https://mail.google.com/mail/u/0/?ui=2&ik=2fa095fabf&view=pt&q=...>

Juliane Paupitz <julianepaupitz@gmail.com>

RE: ACR/ARHP Annual Meeting Final Instructions - Speakers
1 message

AMSpeakers <AMSpeakers@rheumatology.org>
 To: "julianepaupitz@gmail.com" <julianepaupitz@gmail.com>
 Cc: AMSpeakers <AMSpeakers@rheumatology.org>

Thu, Nov 6, 2014 at 1:29 PM

2014 it's
Boston!
 ACR/ARHP ANNUAL MEETING
 Pre-meeting Courses: November 14-15, 2014
 Scientific Sessions: November 15-19, 2014

October 31, 2014

Dear Dr. Juliane Paupitz:

Thank you for agreeing to participate in the 2014 American College of Rheumatology Annual Meeting in Boston, MA. We are delighted and grateful that you have agreed to serve as a speaker or abstract presenter. Please review the attached *Speaker Policies and Guidelines* pamphlet outlining final instructions in preparation for your participation.

NOTE: If you are a speaker and your abstract poster presentation conflicts with your talk, you are required to identify an alternate presenter to present your poster(s). Sessions and talks cannot be moved as the schedule is set, and moving talks or sessions creates scheduling and logistical conflicts in other areas.

You are scheduled to participate as follows:

Role: Presenter

Session Type: ACR/ARHP Poster Session B

de 3

22/11/2015 09:47

Gmail - RE: ACR/ARHP Annual Meeting Final Instructions - Speakers <https://mail.google.com/mail/u/0/?ui=2&ik=2fa095fabf&view=pt&q=...>

Session Title: Pediatric Rheumatology - Clinical and Therapeutic Aspects: Pediatric Lupus, Scleroderma and Myositis (ACR)

Date and Time: Monday, November 17, 2014, from 8:30 AM - 4:00 PM

Talk Title: *Trabecular Bone Impairment Assessed By HR-pQCT in Juvenile-Onset Systemic Lupus Erythematosus with Vertebral Fractures*

Talk Time: 9:00 AM - 11:00 AM

Location: Boston Convention and Exhibition Center, Poster Hall (Exhibit Hall B)

As you finalize your presentation, please remember that you must disclose all financial relationships related to your talk(s) in the second slide of your PowerPoint® presentation, immediately following your title slide. This requirement is in accordance with guidelines set forth by the Accreditation Council for Continuing Medical Education (ACCME®).

Access the entire program online at ACRAnnualmeeting.org using any of the following:

- **New this year!** Download the [ACR2014 app](#) to search the program including abstracts, as well as create a personal schedule – available in early November.
- You can browse the [program book](#) or [Arthritis & Rheumatology Abstract Supplement](#).

If you have any questions or concerns, please contact ACR staff at 404-633-3777 or AMSpeakers@rheumatology.org.

We look forward to seeing you in Boston!

Sent on behalf of:

Chester Oddis, MD, Chair, Annual Meeting Planning Committee

Afton Hassett, PsyD, Chair, ARHP Annual Meeting Program Sub-Committee

Enclosure: Speaker Policies and Guidelines

Warmest regards,

Yvette