GLAUCE LEÃO LIMA

**Avaliação da suplementação de vitamina D em
pacientes com lúpus eritematoso de início juvenil:
estudo clínico, randomizado, duplo-cego,
controlado por placebo**

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: Distúrbios Inflamatórios
e Alérgicos

Orientadora: Profa. Dra. 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

Lima, Glauce Leão

Avaliação da suplementação de vitamina D em pacientes com lúpus eritematoso de início juvenil : estudo clínico, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo / Glauce Leão Lima. -- São Paulo, 2015.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências Médicas. Área de concentração: Processos Inflamatórios e Alérgicos.

Orientadora: Rosa Maria Rodrigues Pereira.

Descritores: 1.Lúpus eritematoso sistêmico 2.Pré-menopausa 3.Vitamina D
4.Colecalciferol 5.Índice de gravidade de doença 6.Fadiga 7.Ensaio clínico controlado

USP/FM/DBD-220/15

DEDICATÓRIA

A Deus, pela vida.

Ao meu marido Américo, por todo o amor, dedicação e carinho.

Aos meus pais, João e Glória, por serem os melhores exemplos que poderia ter.

Ao meu irmão Glauber e à querida Bené, por serem companheiros durante toda minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira, por todo apoio, empenho, ensinamentos e carinho dado para este trabalho.

À Profa. Dra. Eloísa Silva Dutra de Oliveira Bonfá, pelas contribuições para as melhorias deste trabalho.

À Liliam Takayama e Valéria Caparbo, assim como todos do Laboratório de Metabolismo Ósseo, pela ajuda na realização deste trabalho.

À Juliane Aline Paupitz, pela grande contribuição para este trabalho, e pelo companheirismo e amizade.

Aos membros da banca examinadora de qualificação, Profs. Drs. Nádia Aikawa, Ricardo Fuller e Luciana Seguro, pelas valiosas considerações.

Às secretárias do departamento de Reumatologia, especialmente Claudia e Mayra, e às secretárias da Pós-Graduação do ICHC Ciências Médicas, Angélica e Rose, por toda atenção e informações dadas que me ajudaram nesta caminhada.

Ao Dr. Rogerio Ruscitto pelo auxílio com a análise estatística.

Às pacientes desta pesquisa, que colaboraram na elaboração desta tese, sem as quais não seria possível realizá-la.

A CAPES, pelo auxílio de bolsa.

Agradeço a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a elaboração desta tese.

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 tabelas
Resumo
Summary

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	6
3 MÉTODOS	8
3.1 Participantes	9
3.2 Randomização	10
3.3 Avaliação Laboratorial	10
3.4 Coleta de Dados	11
3.5 Parâmetros Clínicos	12
3.6 Análise Estatística	13
3.7 Aprovação da Comissão de Ética	13
4 RESULTADOS	14
5 DISCUSSÃO	21
6 CONCLUSÕES	26
8 ANEXOS	28
9 REFERÊNCIAS	35
APÊNDICES	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

25OHD	- 25-hidroxivitamina D
ACR	- <i>American College of Rheumatology</i>
anti-dsDNA	- Anticorpos anti-DNA dupla fita
CAPPesq	- Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
ECLAM	- <i>European Consensus Lupus Activity Measurement</i>
GC	- Glicocorticoide
HCQ	- Hidroxicloroquina
IFI	- Imunofluorescência indireta
IMC	- Índice de massa corporal
K-FSS	- <i>Kids Fatigue Severity Scale</i>
LES	- Lúpus eritematoso sistêmico
LESj -PL	- Grupo placebo
LESj -VITD	- Grupo suplementação de vitamina D
LESj	- Lúpus eritematoso sistêmico juvenil
p	- Significância estatística
PCR	- Proteína C-reativa
PTH	- Paratormônio
SLEDAI	- <i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index</i>
VAS	- Escala visual analógica
VHS	- Velocidade de hemossedimentação

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos, clínicos, laboratoriais e de tratamento no início do estudo em pacientes com LESj	18
Tabela 2 - Concentrações séricas de 25-hidroxivitamina D (25OHD) em pacientes com LESj no início e após seis meses de intervenção	19
Tabela 3 - Índices de Atividade de Doença (SLEDAI and ECLAM) no início e após seis meses de intervenção.....	19
Tabela 4 - Escore de Fadiga (K-FSS) no início e após seis meses de intervenção.....	20

RESUMO

Lima GL. *Avaliação da suplementação de vitamina D em pacientes com lúpus eritematoso de início juvenil: estudo clínico, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

Objetivos: O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de vitamina D nos parâmetros clínicos, laboratoriais, atividade da doença, e fadiga em pacientes com lúpus eritematoso de início juvenil (LESj). **Métodos:** Este trabalho foi um estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo por um período de 24 semanas. Quarenta pacientes foram randomizadas (1:1) para receber colecalciferol via oral 50.000 UI / semana (LESj-VITD) ou placebo (LESj-PL). A terapêutica destes pacientes foi mantida estável durante este período. As concentrações séricas de 25-hidroxivitamina D (25OHD) foram medidas por radioimunoensaio. A atividade da doença foi avaliada por meio do Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) e pelo European Consensus Lupus Activity Measurement (ECLAM). Fadiga foi avaliada usando a Kids Fatigue Severity Scale (K-FSS). **Resultados:** No início do estudo, os grupos foram semelhantes em relação à idade, índice de massa corporal, envolvimento de órgãos, dose de glicocorticoide, uso de drogas imunossupressoras, SLEDAI, ECLAM, K-FSS e concentrações séricas de 25OHD. Após 24 semanas, as concentrações séricas de 25OHD foram maiores no grupo LESj-VITD que no LESj-PL [(31,3 (8,7) vs. 16,5 (5,8), $p < 0,001$)]. Ao fim da intervenção, uma melhoria significativa no SLEDAI [$\Delta = 0$ (-4 - 5) vs. 1 (-12 - 6) $p = 0,011$] e no ECLAM [$\Delta = 0$ (-2 - 1) vs. 0 (-6 - 3) $p = 0,006$], foi observado no grupo LESj-VITD em comparação com o LESj-PL. Em relação à avaliação de fadiga, uma redução da fadiga relacionada com a vida social foi encontrada no grupo LESj-VITD em comparação com o grupo LESj-PL ($p = 0,008$). A suplementação de colecalciferol foi bem tolerada sem eventos adversos graves. **Conclusões:** Este estudo sugere que a suplementação com colecalciferol por 24 semanas é eficaz em diminuir a atividade da doença e melhorar a fadiga em pacientes com LESj.

Descritores: Lúpus eritematoso sistêmico. Pré-menopausa. Vitamina D. Colecalciferol. Índice de gravidade da doença. Fadiga. Ensaio clínico controlado.

SUMMARY

Lima GL. A randomized double-blind placebo-controlled trial of vitamin D supplementation 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 evaluate the effect of vitamin D supplementation on disease activity and fatigue in Juvenile-onset Systemic Lupus Erythematosus (JoSLE). **Methods:** This study was a randomized double-blind placebo-controlled 24-week trial. Forty JoSLE patients were randomized (1:1) to receive oral cholecalciferol 50,000 IU/week (JoSLE-VitD) or placebo (JoSLE-PL). Medications remained stable throughout the study. Serum levels of 25OHD were measured using radioimmunoassay. Disease activity was assessed using the SLE Disease Activity Index (SLEDAI) and the European Consensus Lupus Activity Measurement (ECLAM). Fatigue was assessed using the Kids Fatigue Severity Scale (K-FSS). **Results:** At baseline, groups were similar regarding, age, body mass index, organ involvement, glucocorticoid dose, use of immunosuppressive drugs, SLEDAI, ECLAM, K-FSS and levels of 25OHD. After 24 weeks, the mean level of 25OHD was higher in the JoSLE-VitD group than in the JoSLE-PL [(31,3 (8,7) vs. 16,5 (5,8), $p < 0,001$)]. At the end of intervention, a significant improvement in SLEDAI [$\Delta = 0$ (-4 - 5) vs. 1 (-12 - 6) $p = 0,011$] and in ECLAM [$\Delta = 0$ (-2 - 1) vs. 0 (-6 - 3) $p = 0,006$] was observed in the JoSLE-VitD group compared to the JoSLE-PL. Regarding fatigue evaluation, a reduction of fatigue related to social life score was found in the JoSLE-VitD group compared to the JoSLE-PL group ($p = 0,008$). Cholecalciferol was well tolerated with no serious adverse events. **Conclusion:** This study suggests that cholecalciferol supplementation for 24 weeks is effective in decreasing disease activity and improving fatigue in JoSLE patients.

Descriptors: Systemic lupus erythematosus. Premenopausal; Vitamin D. Cholecalciferol. Severity index of disease. Fatigue. Controlled clinical trial.

1 INTRODUÇÃO

As funções clássicas da vitamina D no osso consistem em manter níveis séricos e extracelulares de cálcio constantes, por meio do transporte ativo intestinal no duodeno, assim como inibir a excreção renal de cálcio. Na manutenção da massa óssea, os níveis de vitamina D mantêm-se adequados para a mineralização óssea normal (DeLuca, 2004 e Holick, 2007).

Tem-se demonstrado níveis séricos de vitamina D reduzidos em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. Esses pacientes apresentam vários fatores de risco para esta deficiência: fotossensibilidade com o uso contínuo de fotoprotetores, impedindo a ação da exposição solar; uso crônico de glicocorticoides, o qual altera a metabolização da vitamina D, dando uma forma polar na molécula, inativando-a; uso de hidroxicloroquina, que parece alterar o metabolismo de vitamina D, diminuindo a conversão de vitamina D₂ para vitamina D₃; nefrite lúpica, que provoca um prejuízo na 1-alfa-hidroxilação. Além disso, foram observados anticorpos antivitamina D em um grupo de pacientes com lúpus e síndrome do anticorpo antifosfolípide, particularmente naqueles com anticorpos anti DNA positivo (Griffiths *et al.*, 2005, Arnson *et al.*, 2007; Carvalho *et al.*, 2007; Ruiz-Irastorza *et al.*, 2008).

Estudos também têm demonstrado que a vitamina D desempenha um papel importante não só na saúde do osso, mas também no sistema imune

(DeLuca, 2004). A presença de receptores de vitamina D em células envolvidas na resposta imune e descoberta de que as células dendríticas expressam receptores de vitamina D fornecem evidência para as suas propriedades imunomoduladoras (Kamen e Aranow, 2008; De Borst *et al.*, 2011; Zold *et al.*, 2011).

A vitamina D tem efeitos sobre as células T e B, modulando sua ativação. Em níveis normais, esse hormônio pode regular as células B e a secreção de anticorpos (Yang *et al.*, 2013; Gatenby *et al.*, 2013). Por conseguinte, a deficiência de vitamina D tem sido particularmente associada com doenças autoimunes, tais como esclerose múltipla, diabetes *mellitus*, artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico (LES) (Munger *et al.*, 2006; Kamen *et al.*, 2006; Cutolo e Otsa, 2008; Hyppönen, 2010; Antico *et al.*, 2012).

Estudos anteriores sugeriram uma base imunológica para a associação de baixos níveis de vitamina D e o aparecimento ou a gravidade do LES (Bonakdar *et al.*, 2011; Mandal *et al.*, 2014). Além disso, pacientes com LES e deficiência de vitamina D têm níveis mais elevados de anticorpos anti-DNA dupla fita (anti-dsDNA) (Mandal *et al.*, 2014) e piores índices de atividade da doença, envolvendo particularmente manifestações renais e hematológicas (Cutolo, 2009; Amital *et al.*, 2010; Hamza *et al.*, 2011) (Quadro 1).

Quadro 1 - Estudos transversais prévios avaliando vitamina D e atividade da doença em pacientes com LES

N	Conclusões	Autores
378	Correlação inversa com atividade da doença	Amital <i>et al.</i> (2010)
124	Sem correlação com atividade da doença	Tolozza <i>et al.</i> (2010)
198	Correlação com atividade da doença	Ben-Zvi <i>et al.</i> (2010)
104	Sem correlação com atividade da doença	Kim <i>et al.</i> (2010)
40	Correlação com atividade de doença, notadamente aumento de anti-dsDNA	Bonakdar <i>et al.</i> (2011)
60	Correlação com atividade da doença	Hamza <i>et al.</i> (2011)
177	Correlação com atividade da doença	Szodoray <i>et al.</i> (2011)
290	Correlação com atividade de doença, notadamente aumento de anti-dsDNA	Mok <i>et al.</i> (2012)
73	Sem correlação com a atividade de doença	Muñoz-Ortego <i>et al.</i> (2012)
46	Flare da doença ao declínio dos níveis de vitamina D	Birmingham <i>et al.</i> (2012)
49	Associação com envolvimento renal	Bogaczewicz <i>et al.</i> (2012)
95	Sem correlação com atividade pelo SLEDAI	Attar e Siddiqui (2013)
129	Relação inversa com atividade da doença, níveis de anti-dsDNA e IFN- α	Mandal <i>et al.</i> (2014)
70	Sem correlação com a atividade de doença	Garf <i>et al.</i> (2015)
119	Correlação com baixos níveis e atividade da doença	Yap <i>et al.</i> (2015)

Onde: LES = lúpus eritematoso sistêmico; anti-dsDNA = anticorpos anti-DNA dupla fita osteoporose; IFN- α = Interferon alfa, SLEDAI = *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*.

Em relação aos sintomas do LES, a fadiga foi relatada em até 81% dos pacientes adultos. Apesar de ser uma manifestação complexa e não específica, vários estudos sobre lúpus em adultos têm sugerido uma associação entre fadiga e atividade da doença (Wysenbeek *et al.*, 1993; Tench *et al.*, 2000; Mattsson *et al.*, 2008). No entanto, em relação à vitamina D, os

dados ainda são controversos (Ruiz-Irastorza *et al.*, 2008; Stockton *et al.*, 2012). Um estudo avaliou a fadiga em uma população de lúpus juvenil, mas os níveis de vitamina D não foram avaliados (Houghton *et al.*, 2008).

Sobre vitamina D e lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj), existem dados na literatura com alguma evidência de uma maior frequência de deficiência de vitamina D em pacientes com LESj do que nos controles pareados por idade (Wright *et al.*, 2009; Peracchi *et al.*, 2014; Stagi *et al.*, 2014), além de maiores níveis de marcadores inflamatórios (Robinson *et al.*, 2014). Segundo Casella *et al.* (2012) o grupo demonstrou uma associação de deficiência de vitamina D (< 20 ng/mL) e pior índice de atividade da doença, dado pelo *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (SLEDAI), apoiando a teoria de que a suplementação de vitamina D possa ser benéfica para esses pacientes.

Em estudos recentes sobre suplementação de vitamina D no lúpus eritematoso sistêmico, observa-se a escassez de dados em crianças e adolescentes (Ruiz-Irastorza *et al.*, 2010; Terrier *et al.*, 2012; Petri *et al.*, 2013; Abou-Raya *et al.*, 2013; Andreoli *et al.*, 2015; Aranow *et al.*, 2015; AISaleem *et al.*, 2015).

2 OBJETIVOS

Comparar o efeito da suplementação ou não de vitamina D (colecalfiferol 50.000 UI/ semana por seis meses *versus* placebo) em pacientes com diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico juvenil em relação aos seguintes parâmetros:

- a) Índices de atividade da doença:
 - *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*.
 - *European Consensus Lupus Activity Measurement* (ECLAM).
- b) Escore de Fadiga
 - *Kids Fatigue Severity Scale* (K-FSS).

3 MÉTODOS

Este trabalho é um estudo duplo-cego, randomizado, controlado por placebo (*Clinical Trial Registry*: NCT01892748), realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil.

3.1 Participantes

De julho de 2012 a agosto de 2013, foram selecionados 60 pacientes com LESj seguidos no Ambulatório de Doenças Reumatológicas Iniciadas na Infância do Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Destes, foram incluídos no estudo 45 do sexo feminino os quais preencheram os critérios de classificação para LES do Colégio Americano de Reumatologia (*American College of Rheumatology* - ACR) (Hochberg, 1997) e apresentaram sintomas antes dos 16 anos de idade e atualmente com menos de 25 anos.

Os critérios de exclusão foram: SLEDAI superior a 12 (para minimizar a possibilidade de modificação do tratamento, incluindo um aumento nas doses de glicocorticoides e de associação de drogas imunossupressoras durante o estudo), outras doenças autoimunes ou doenças infecciosas, insuficiência renal (creatinina sérica > 2,5 g/dL), história de nefrolitíase, hipercalciúria, má absorção intestinal, insuficiência hepática, uso atual ou prévio de medicações com ação óssea, gestação e recusa em participar do

estudo. Pacientes que receberam ciclofosfamida, rituximabe ou doses elevadas de metilprednisolona nos últimos três meses, também foram excluídas.

3.2 Randomização

Os pacientes foram randomizados em dois grupos paralelos: suplementação de vitamina D (LESj -VITD) e placebo (LESj -PL). Tanto os participantes do estudo quanto o pesquisador desconheciam a medicação utilizada. O primeiro grupo recebeu colecalciferol 50.000 UI/semana via oral e o segundo grupo recebeu placebo em comprimidos idênticos durante seis meses. Todos os indivíduos foram avaliados no início e após o término da suplementação para os parâmetros clínicos e laboratoriais. A adesão da suplementação de vitamina D foi avaliada pela contagem de comprimidos de vitamina D devolvidos, além de telefonemas quinzenais para os pacientes.

Antes de randomização, foi realizado um *washout* de três meses de vitamina D em todas as pacientes participantes do estudo.

3.3 Avaliação Laboratorial

Os níveis séricos de 25-hidroxivitamina D (25OHD) foram medidos através da técnica de radioimunoensaio (DiaSorin[®], Stillwater, MN, EUA), com limite inferior de detecção de 5 ng/mL, sendo considerado níveis normais de vitamina D entre 30 a 100 ng/mL. A deficiência de vitamina D foi definida como níveis séricos inferiores a 20 ng/mL; níveis séricos entre 20

ng/mL e 29 ng/mL foram classificados como insuficiência de vitamina D (Holick *et al.*, 2011). Os coeficientes de variação intra e interensaio foram de 7,8% e 5,6%, respectivamente.

Anticorpos anti-DNA dupla-fita foram detectados por Imunofluorescência indireta (IFI) utilizando *Crithidia luciliae*. A medição do complemento (C3 e C4) do soro foi realizada usando imunoturbidimetria. A velocidade de hemossedimentação (VHS) foi medida utilizando o método Westergren, e proteína C-reativa (PCR) foi medida por imunoturbidimetria. Os níveis séricos de cálcio e de creatinina, hemograma completo e o nível de proteína na urina de 24 horas foram determinados através de metodologia padrão.

3.4 Coleta de Dados

Dados demográficos e antropométricos foram obtidos por questionário padronizado ou exame físico incluindo etnia, idade, altura e peso.

As características demográficas e dados clínicos foram obtidos por meio de um questionário específico (Anexo A). Os pacientes foram rotineiramente avaliados no início, três e seis meses após. Na avaliação, foram incluídos aspectos clínicos relevantes para este estudo (critérios de diagnóstico, duração da doença, índice de massa corporal (IMC), uso de medicamentos incluindo a dose média diária de glicocorticoide (GC) e drogas imunossupressoras).

A etnia foi definida com base em consulta autodeclarada de segunda geração de antepassados, uma abordagem utilizada anteriormente para a

população brasileira (Fuchs *et al.*, 2002). Indivíduos que relataram quatro avós caucasianos foram classificados como brancos. Indivíduos com ancestrais africanos e caucasianos (etnia miscigenada) foram classificados como não caucasianos. Quando a informação racial em relação aos avós não estava disponível, a etnia de um indivíduo foi igualmente determinada pela etnia de seus pais.

3.5 Parâmetros Clínicos

Na avaliação, foram incluídos aspectos clínicos relevantes para este estudo (critérios de diagnóstico, duração da doença, IMC, uso de medicamentos incluindo a dose média diária de GC e drogas imunossupressoras).

A atividade da doença foi avaliada através dos índices: SLEDAI (Bombardier *et al.*, 1992) e ECLAM (Vitali *et al.*, 1992). Os índices de atividade da doença foram mensurados no dia que as amostras de soro foram colhidas.

Todas as pacientes completaram um questionário específico para avaliar a fadiga. O questionário foi o K-FSS (Krupp *et al.*, 1989) que foi previamente utilizado e validado para pacientes com lúpus juvenil (Houghton *et al.*, 2008). As pontuações variam de 1 a 7, com níveis mais elevados indicando maior fadiga. Neste questionário, algumas variáveis foram reclassificadas como “ir para a escola”, “exercícios”, e “vida social”, uma vez que eram mais adequados para as crianças e às atividades dos adolescentes (Houghton *et al.*, 2008).

Fotoprotecção foi recomendada para todas as pacientes. Ambos os grupos foram autorizados a continuar sua terapia em curso padrão [GC, hidroxicloroquina (HCQ), imunossupressores], desde que as doses fossem mantidas estáveis. Foi permitida uma elevação mínima de GC, quando necessário.

3.6 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média (desvio padrão) ou mediana ou porcentagem. Os dados do grupo no início do estudo e seis meses de seguimento foram comparados utilizando-se os testes t de Student e qui-quadrado. As variáveis contínuas entre os dois grupos foram comparadas por meio do teste-t de Student ou teste de Mann-Whitney. As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste do qui-quadrado e teste exato de Fisher, conforme o caso. O programa usado foi SPSS para Windows, versão 20.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA). A significância estatística foi definida como um valor de $p < 0,05$.

3.7 Aprovação da Comissão de Ética

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 0059/11) e todos os participantes leram, concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexos B e C).

4 RESULTADOS

Quarenta e cinco pacientes iniciaram o estudo. A distribuição entre os grupos foi aleatória tanto para o grupo LESj - VITD (n = 22) quanto o grupo LESj - PL (n = 23). Cinco pacientes se retiraram por razões pessoais ou por perda de seguimento. Portanto, 40 pacientes completaram o estudo e foram analisadas (Figura 1). A aderência à suplementação foi semelhante nos dois grupos (85% vs 75%, $p = 0,69$).

Figura 1 - Fluxograma dos participantes do estudo

Os parâmetros basais de ambos os grupos encontram-se descritos na Tabela 1. Os parâmetros antropométricos, clínicos e laboratoriais da doença foram semelhantes nos grupos LESj-VITD e LESj-PL ($p > 0,05$). Possíveis

fatores de viés para os níveis de vitamina D, incluindo IMC, etnia, estação do ano e proteinúria foram comparáveis em ambos os grupos. O nível de 25OHD no início do estudo foi de 19,1 (6,4) ng/mL no grupo LESj-VITD vs. 19,5 (4,5) ng/mL no grupo LESj-PL ($p = 0,82$). A prevalência geral de insuficiência de vitamina D em todas as pacientes no início do estudo foi de 95%.

Durante o período de estudo apenas duas pacientes necessitaram de alterações mínimas no tratamento. Em uma paciente do grupo LESj-VITD foi necessário um aumento da dose de prednisona 5 para 10 mg/dia, devido à atividade articular refratária ao uso de anti-inflamatório não hormonal. Em outra paciente do grupo LESj-PL, a prednisona foi aumentada de 2,5 a 10 mg/dia, também para a atividade articular.

Após seis meses de suplementação, as pacientes LESj-VITD apresentaram maiores níveis de 25OHD do que as do grupo LESj-PL [31,3 (8,7) vs 16,5 (5,8), $p < 0,001$]. Além disso, no grupo LESj-VITD, 70% dos doentes alcançaram níveis 25OHD > 30 ng/mL em comparação com 0% no grupo LESj-PL ($p < 0,001$) (Tabela 2). O uso das cápsulas no grupo LESj-VITD foi similar em pacientes de ambos os grupos após 24 semanas (86% vs 83%, $p = 1,0$).

Uma melhoria significativa no SLEDAI [0 (-4 - 5) vs 1 (-12 - 6), $p = 0,011$] no ECLAM [0 (-2 - 1) vs 0 (-6 - 3), $p = 0,006$], também foi observado no grupo LESj-D, em comparação com o grupo LESj-PL (Tabela 3).

No que diz respeito à melhoria no SLEDAI, o anti-DNA tornou-se negativo em quinze por cento no grupo que recebeu a suplementação, mas

em nenhum no grupo que recebeu placebo (15% vs 0%; $p = 0,03$), sem diferenças significativas para os outros itens do SLEDAI. A redução aparente de envolvimento cutâneo no grupo da vitamina D (5% vs 0%, $p = 0,66$), e melhoria das manifestações articulares no grupo suplementado (5%) em relação à piora (10%) no grupo placebo ($p = 0,18$) não atingiram significância estatística. O nível de proteinúria foi semelhante antes e após a suplementação de vitamina D (180 vs 200 mg/24h, $p = 0,32$) e não foi observada correlação significativa ($r = 0,019$, $p = 0,93$).

Pacientes que receberam o suplemento de vitamina D (colecalfiferol 50.000 UI/semana) tinham um melhor escore global de fadiga no final do estudo do que o grupo placebo [3,15 (1,44) x 4,30 (1,33), $p = 0,012$]. A análise de itens específicos do escore de fadiga revelou uma melhoria significativa para a vida social no grupo LESj-VITD em comparação com o grupo LESj-PL [-0,95 (1,95) vs 0,60 (1,53), $p = 0,008$]. Além disso, após 24 semanas de suplementação, itens específicos do escore de fadiga, incluindo fadiga com facilidade, fadiga durante o exercício, fadiga a médios esforços e fadiga considerada um problema, foram significativamente melhores no grupo LESj-VITD do que no grupo LESj-PL ($p < 0,05$) (Tabela 4).

A suplementação foi bem tolerada com nenhuma diferença de segurança entre os dois grupos. Seis pacientes (quatro no grupo de intervenção e dois no grupo do placebo) relataram dor epigástrica, mas sem interrupção do tratamento. Níveis séricos e urinários de cálcio estavam dentro dos padrões de normalidade no início do estudo e após seis meses de avaliação em ambos os grupos. Não foram registrados efeitos adversos graves.

Tabela 1 - Dados demográficos, clínicos, laboratoriais e de tratamento no início do estudo em pacientes com LESj

	LESj-vitD N = 20	LESj-PL N = 20	p
Idade, anos	18,5 (3,5)	19,3 (3,3)	0,46
Etnia			
Caucasiana (%)	70	75	0,73
Não-Caucasiana (%)	30	25	0,73
Estação do ano			
Inverno (%)	45	40	0,76
Primavera (%)	40	35	0,75
Verão (%)	15	25	0,44
Índice de massa corporal, kg/m ²	22,8 (3,9)	24,2 (5,3)	0,36
Envolvimento cutâneo (%)	25	30	0,80
Envolvimento articular (%)	5	5	1,00
Envolvimento hematológico (%)	45	55	0,64
Doença renal (%)	10	20	0,42
Proteinúria, mg/dia	180 (50 - 1127)	195 (50 - 1700)	0,55
Uso de glicocorticoide (%)	80	85	0,68
Dose de glicocorticoide, mg/dia	11,90 (9,4)	14,12 (9,15)	0,42
Uso de hidroxicloroquina (%)	80	85	0,68
Uso de imunossupressor (%)	85	75	0,44
Azatioprina (%)	65	50	0,35
Micofenolato de Mofetil (%)	15	25	0,44
Metotrexato (%)	15	15	1
Anti-dsDNA positivo (%)	45	40	0,75
C3, mg/dL	85,75 (27,5)	91,05 (24,5)	0,52
C4, mg/dL	14,34 (6,7)	14,40 (9,6)	0,97
PTH, pg/mL	32,85 (15,8)	28,6 (10,7)	0,32
Creatinina sérica, mg/dL	0,65 (0,1)	0,70 (0,2)	0,25
Cálcio sérico, mg/dL	9,4 (0,5)	9,1 (0,5)	0,11

Dados expressos como média (desvio padrão) ou número (porcentagem)
PTH = Paratormônio

Tabela 2 - Concentrações séricas de 25-hidroxivitamina D (25OHD) em pacientes com LESj no início e após seis meses de intervenção

	LESj- VitD N = 20	LESj- PL N = 20	<i>p</i>
Início			
25OHD, ng/mL	19,1 (6,4)	19,5 (4,5)	0,82
25OHD < 30 ng/mL (%)	90	100	0,15
25OHD < 20 ng/mL (%)	60	45	0,35
Após 6 meses			
25OHD, ng/mL	31,3 (8,7)	16,5 (5,8)	< 0,001
25OHD < 30 ng/mL (%)	30	100	< 0,001
25OHD < 20 ng/mL (%)	10	75	< 0,001

Dados expressos como média (desvio padrão) ou porcentagem

Tabela 3 - Índices de Atividade de Doença (SLEDAI and ECLAM) no início e após seis meses de intervenção

Score	LESj- VitD N = 20	LESj- PL N = 20	<i>p</i>
SLEDAI			
Início	4 (0 - 8)	3 (0 - 12)	0,829
Após 6 meses	2,5 (0 - 12)	4 (0 - 12)	0,060
6 meses - início	0 (-4 - 5)	1 (-12 - 6)	0,011
ECLAM			
Início	2 (0 - 5)	2 (0 - 6)	0,903
Após 6 meses	2 (0 - 6)	2,5 (0 - 6)	0,121
6 meses - início	0 (-2 - 1)	0 (-6 - 3)	0,006

Dados expressos como mediana (amplitude)

SLEDAI = *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*; ECLAM = *European Consensus Lupus Activity Measurement*

Tabela 4 - Escore de Fadiga (K-FSS) no início e após seis meses de intervenção

	LESj- VitD N=20	LESj- PL N =20	p
Incapaz de realizar atividades quando tem fadiga			
Início	5,00 (1,89)	5,05 (2,06)	0,936
6 meses	4,00 (2,29)	4,80 (2,01)	0,248
6 meses - início	-1,00 (2,38)	-0,25 (1,61)	0,251
Fadiga quando realiza exercícios			
Início	4,65 (2,03)	4,90 (1,99)	0,697
6 meses	4,00 (2,00)	5,35 (1,72)	0,027
6 meses - início	-0,65 (1,92)	0,45 (2,25)	0,105
Fadiga com facilidade			
Início	3,65 (1,95)	4,40 (2,16)	0,257
6 meses	3,05 (1,70)	4,75 (1,77)	0,003
6 meses - início	-0,60 (2,25)	0,35 (1,72)	0,143
Fadiga aos médios esforços			
Início	3,65 (2,03)	4,20 (1,90)	0,383
6 meses	3,20 (1,70)	4,55 (1,73)	0,017
6 meses - início	-0,45 (2,16)	0,35 (1,72)	0,203
Fadiga considerada um problema			
Início	3,05 (1,87)	3,60 (1,53)	0,316
6 meses	2,95 (1,50)	4,10 (1,65)	0,026
6 meses - início	-0,10 (1,68)	0,50 (1,27)	0,211
Fadiga crônica			
Início	3,05 (1,60)	3,85 (1,66)	0,129
6 meses	3,10 (1,83)	3,90 (1,61)	0,151
6 meses - início	0,05 (1,60)	0,05 (1,46)	0,999
Fadiga considerada o pior problema			
Início	2,65 (1,49)	3,40 (1,63)	0,138
6 meses	2,60 (1,60)	3,60 (1,53)	0,051
6 meses - início	-0,05 (1,53)	0,20 (1,32)	0,584
Fadiga interferindo na atividade escolar			
Início	3,35 (1,69)	3,90 (1,51)	0,286
6 meses	2,85 (1,59)	3,60 (1,53)	0,138
6 meses - início	-0,50 (1,84)	-0,30 (1,34)	0,697
Fadiga interferindo na vida social			
Início	3,55 (1,98)	3,50 (1,73)	0,932
6 meses	2,60 (1,60)	4,10 (1,88)	0,010
6 meses - início	-0,95 (1,95)	0,60 (1,53)	0,008

Dados expressos como média (desvio padrão)

5 DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou pela primeira vez que a suplementação de vitamina D (colecalfiferol 50.000 UI/semana, durante seis meses) melhora a atividade da doença e fadiga no Lúpus Eritematoso Juvenil.

Os dados basais semelhantes entre os grupos, como IMC, uso de glicocorticoides e hidroxicloroquina permitiram uma análise mais acurada do efeito da suplementação de vitamina D. O peso poderia ser um fator de confusão porque a vitamina D é lipossolúvel e baixos níveis de 25OHD em indivíduos com excesso de peso poderia ser por uma consequência desse volume maior presente (Wortsman *et al.*, 2000; Sahebari *et al.*, 2014). Além disso, sugere-se que a cloroquina iniba a conversão 25OHD para 1,25OHD e, conseqüentemente, aumentaria os níveis de 25OHD (Sahebari *et al.*, 2014). Os glicocorticoides também podem influenciar os níveis séricos de vitamina D (Chaiamnuay *et al.*, 2013) neutralizando seus efeitos (Canalis *et al.*, 2007).

A vitamina D possui efeitos imunomoduladores importantes, como diminuição de células Th1 CD4 e citocinas, aumento de células T reguladoras, inibição da diferenciação de células dendríticas e prevenção da proliferação das células B ativadas (Arnson *et al.*, 2007). A deficiência de vitamina D parece contribuir para o aumento da ativação das células B em pacientes com LES e aumento da produção de auto-anticorpos em

indivíduos geneticamente suscetíveis (Cutolo, 2009; Ritterhouse *et al.*, 2011; Schneider *et al.*, 2014). Deste modo, a redução significativa da frequência de anticorpos anti-dsDNA em pacientes LESj sob suplementação com vitamina D observada nesse estudo, reforça achados anteriores em adultos egípcios e franceses com LES, onde mostraram decréscimo nos auto anticorpos, notadamente anti-dsDNA (Terrier *et al.*, 2012; Abou-Raya *et al.*, 2013).

Os baixos níveis desse hormônio têm sido associados com uma maior prevalência e níveis mais elevados de atividade no LES (Mok *et al.*, 2012). De fato, um estudo anterior em lúpus adulto mostrou uma associação significativa entre a diminuição dos níveis de vitamina D e *flare* da doença, especialmente durante os meses de baixa exposição solar (Birmingham *et al.*, 2012). Sendo assim, o ajuste de níveis de vitamina D pode ser útil no tratamento de condições mediadas por células B, tais como o LES. Apoiando esta hipótese, já anteriormente relatada em um estudo transversal, pacientes com lúpus juvenil com níveis mais baixos de vitamina D apresentaram maior SLEDAI (Casella *et al.*, 2012). Assim como foi também relatado em diversos estudos com adultos (Hamza *et al.*, 2011; Mandal *et al.*, 2014). Foi demonstrado no presente estudo prospectivo que seis meses de suplementação de vitamina D é eficaz em induzir uma melhoria significativa na atividade da doença (SLEDAI) predominantemente associado ao anti-DNA.

Nesse estudo foi também observado, além da melhoria laboratorial, um efeito clinicamente significativo da suplementação de vitamina D: uma diminuição no escore de fadiga no grupo LESj-VITD, já que esta é uma queixa comum e incapacitante em pacientes lúpicos ativos.

A gravidade da fadiga no LES pode estar relacionada com o psicossocial, doenças associadas e fatores relacionados com o tratamento. Em pacientes com lúpus, a fadiga pode ser importante e muitas vezes afeta a capacidade de um indivíduo (Ruiz-Irastorza *et al.*, 2008). No que diz respeito sobre fadiga, o estudo demonstrou que os pacientes que receberam suplementação com vitamina D apresentaram uma melhoria em muitos aspectos relacionados e mais significativamente na vida social, incluindo a taxa de variação percentual desse último parâmetro. A melhoria neste item é particularmente importante em pacientes adolescentes, adultos jovens. Além disso, um aumento do tamanho da amostra poderia melhorar estes resultados significativos. Vários estudos relataram altas taxas de fadiga em pacientes com lúpus juvenil (Stockton *et al.*, 2012; Schmeding *et al.*, 2013). Em nosso estudo, foi utilizada a Escala de Severidade de Fadiga Infantil (traduzida do K-FSS), uma escala de severidade de fadiga adaptada e validada, previamente utilizada em pacientes com lúpus juvenil (Houghton *et al.*, 2008). Semelhante aos nossos resultados, Ruiz-Istagroza *et al.* (2010) demonstraram uma diminuição de sintomas de fadiga após a suplementação de vitamina D em pacientes com lúpus adulto utilizando a escala visual analógica (VAS), a qual é menos específica para fadiga.

A dose utilizada foi de 50.000 UI de acordo com Holick *et al.* (2011), que mostraram que a suplementação de 50.000 UI/semana de vitamina D após oito semanas pode aumentar os níveis séricos na maioria dos indivíduos. Outros protocolos de suplementação foram também referidos como sendo eficazes na indução de um efeito modulador imune no lúpus

adulto, tais como a suplementação diária com 2000 UI de colecalciferol por 12 meses e suplementação com 100.000 UI de vitamina D por semana durante quatro semanas, seguido de 100.000 UI/mês por seis meses (Terrier *et al.*, 2012; Abou-Raya *et al.*, 2013).

6 CONCLUSÕES

A reposição de vitamina D é bem tolerada e pode melhorar a modulação imunológica em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico juvenil, diminuindo escores de atividade da doença e fadiga. A intervenção terapêutica pode ser recomendada em pacientes com níveis deficientes de 25OHD. No entanto, estudos multicêntricos ainda são necessários para a confirmação desses achados.

Anexo A - Questionário padronizado

Ficha de Apresentação dos Pacientes: Avaliação da suplementação de vitamina D em pacientes com Lúpus Eritematoso de início Juvenil

Laboratório de Metabolismo Ósseo - LIM17 Reumatologia/FMUSP
 Profa. Dra Rosa M. R. Pereira - Pós-graduanda Glauce Leão Lima

- 1 - Data: ____/____/____
- 2 - Estação do ano (1) inverno (2) primavera (3) verão (4) outono
- 3 - Nome:
- 4 - RG:
- 5 - Idade:.....
- 6 - Etnia: (1) branca (2) parda (3) negra (4) asiática
- 7 - Nome da mãe:
- 8 - Endereço
- 9 - Fone
- 10 - ACR:critérios
- 11 - Quais:

12 - Rash Malar	(1) sim	(2) não
13 - Imunológico	(1) sim	(2) não
14 - Artrite	(1) sim	(2) não
15 - Fotossensibilidade	(1) sim	(2) não
16 - Neurológico	(1) sim	(2) não
17 - FAN	(1) sim	(2) não
18 - Úlceras orais	(1) sim	(2) não
19 - Nefrite	(1) sim	(2) não
20 - Serosite	(1) sim	(2) não
21 - Leões discoides	(1) sim	(2) não
22 - Hematológico	(1) sim	(2) não

Medicações em uso

23 - Vitamina D	(1) sim	(2) não	Dose atual
24 - Cloroquina	(1) sim	(2) não	
25 - Prednisona	(1) sim	(2) não	
25 - Azatioprina	(1) sim	(2) não	
26 - Ciclofosfamida	(1) sim	(2) não	
27 - MMF	(1) sim	(2) não	
28 - Outras drogas	(1) sim	(2) não	

Fadiga = LESJ e Vitamina D

Na última semana Discordo Totalmente → Concordo Totalmente

29 - Eu não sinto vontade de fazer nada quando estou cansado	1 2 3 4 5 6 7
30 - Exercícios me cansam	1 2 3 4 5 6 7
31 - Eu me canso com facilidade	1 2 3 4 5 6 7
32 - Cansaço interfere em coisas como caminhar, correr ou subir escadas	1 2 3 4 5 6 7
33 - Cansaço frequentemente me traz problemas	1 2 3 4 5 6 7
34 - Meu cansaço torna mais difíceis minhas atividades há algum tempo	1 2 3 4 5 6 7
35 - O cansaço interfere em coisas que preciso fazer como ir à escola	1 2 3 4 5 6 7
36 - O cansaço é um dos meus 3 maiores	1 2 3 4 5 6 7
37 - O cansaço interfere na minha vida social	1 2 3 4 5 6 7

Anexo B - Aprovação da CAPPesq

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 23/02/2011, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0059/11**, intitulado: **"AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO DE INÍCIO JUVENIL"** apresentada pelo Departamento de **CLÍNICA MÉDICA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Rosa Maria Rodrigues Perelra**
 Pesquisador (a) Executante: **Glauce Leão Lima**

CAPPesq, 24 de fevereiro de 2011

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
 Coordenador
 Comissão de Ética para Análise de
 Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP Fone: 011 3069 6142 Fax: 011 3069 5432
 e-mail: cappesq@hcfm.usp.br

Anexo C - Termo de consentimento livre e esclarecido

**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, cuidador, 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 suplementação de vitamina D em pacientes com Lúpus Eritematoso de início Juvenil
2. PESQUISADORES : Profa Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira
CARGO/FUNÇÃO: Profa Associada
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 45920
UNIDADE DO HCFMUSP: Clínica Médica - Reumatologia
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
RISCO MÍNIMO	☐	RISCO MÉDIO	☐
RISCO BAIXO	☒	RISCO MAIOR	☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 4 anos

- 1 Você ou responsável legal está sendo convidado para participar deste estudo onde pretendemos analisar os valores no sangue de vitamina D em pacientes com lupus eritematoso sistêmico de início juvenil, e suas associações com a atividade e gravidade da doença. Também iremos ver se a reposição dessa vitamina melhora a sua doença. Para analisar a melhor forma de tratamento, é preciso fazer comparações nos tratamentos e por isso pesquisa será dividida em dois grupos por sorteio.
Você tomará 2 comprimidos de 25.000U desta vitamina (50.000 U) por semana por 3 meses e depois 2 comprimidos (50.000 U) por semana por mais 3 meses ou você tomará 2 comprimidos de produto não ativo (placebo) por 3 meses e depois 2 comprimidos de produto não ativo (placebo) por mais 3 meses.
O sorteio significa que você será designado(a) para um grupo ao acaso.
- 2 Você ou responsável legal responderá um questionário de informações gerais sobre dados pessoais, uso de medicamentos para o lupus eritematoso sistêmico, data do diagnóstico e do início de acompanhamento ambulatorial. Será também feito um exame físico geral.
- 3 Serão colhidos sangue e urina de 24 horas como é feito de rotina, e também sangue para ver o nível no sangue desta vitamina D.
- 4 Será realizado exame de densitometria óssea e microtomografias ósseas para avaliar o seu osso (massa óssea).
- 5 Existem mínimos riscos para o participante do estudo como sangramentos e hematomas no local da coleta. Para a realização de densitometria e da microtomografia você ou o menor em estudo receberá uma pequena radiação.

A partir dos resultados desta pesquisa poderemos conhecer se a reposição de vitamina D em pacientes com lupus eritematoso sistêmico melhoram a atividade da doença em questão, a massa óssea, ou previnem a fadiga (cansaço) devido ao lupus eritematoso sistêmico. Se esta vitamina melhorar a sua doença ou fadiga você poderá recebê-la durante todo o seu tratamento neste hospital.
- 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 encontrado no endereço *Av. Dr. Arnaldo 455, 3º andar sala 3105 - CEP: 01246-903, São Paulo-SP* Telefone(s) 11-30617213. 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: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappelq@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. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.
- 11 Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo, o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.
- 12 Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo Determinação das Concentrações Séricas de Vitamina D em Indivíduos Saudáveis: Proposta de Elaboração de Valores de Referência e Associação Clínica, Laboratorial, Densitométrica, Imunológica e Genética. Eu discuti com a Dra. Rosa Maria R 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 do paciente/representante legal 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

Data ____ / ____ / ____

9 REFERÊNCIAS

Abou-Raya A, Abou-Raya S, Helmii M. The effect of vitamin D supplementation on inflammatory and hemostatic markers and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus: a randomized placebo-controlled trial. *J Rheumatol*. 2013; 40(3):65-72.

AlSaleem A, AlE'ed A, AlSaghier A, Al-Mayouf SM. Vitamin D status in children with systemic lupus erythematosus and its association with clinical and laboratory parameters. *Clin Rheumatol*. 2015; 34(1):81-4.

Amital H, Szekanecz Z, Szücs G, Dankó K, Nagy E, Csépany T, Kiss E, Rovensky J, Tuchynova A, Kozakova D, Doria A, Corocher N, Agmon-Levin N, Barak V, Orbach H, Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y. Serum concentrations of 25-OH vitamin D in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) are inversely related to disease activity: is it time to routinely supplement patients with SLE with vitamin D? *Ann Rheum Dis*. 2010; 69(6):155-7.

Andreoli L, Dall'Ara F, Piantoni S, Zanola A, Piva N, Cutolo M, Tincani A. A 24-month prospective study on the efficacy and safety of two different monthly regimens of vitamin D supplementation in pre-menopausal women with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2015; 24(4-5):499-506.

Antico A, Tampoia M, Tozzoli R, Bizzaro N. Can supplementation with vitamin D reduce the risk or modify the course of autoimmune diseases? A systematic review of the literature. *Autoimmun Rev*. 2012; 12(2):127-36.

Aranow C, Kamen DL, Dall'Era M, Massarotti EM, Mackay MC, Koumpouras F, Coca A, Chatham WW, Clowse ME, Criscione-Schreiber LG, Callahan S, Goldmuntz EA, Keyes-Elstein L, Oswald M, Gregersen PK, Diamond B. Double-blind randomized placebo-controlled trial of the effect of vitamin D3 on the interferon signature in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol*. 2015 Mar 16. doi: 10.1002/art.39108. [Epub ahead of print].

Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis*. 2007; 66(9):1137-42.

Attar SM, Siddiqui AM. Vitamin d deficiency in patients with systemic lupus erythematosus. *Oman Med J*. 2013; 28(1):42-7.

Vitali C, Bencivelli W, Isenberg DA, Smolen JS, Snaith ML, Sciuto M, Neri R, Bombardieri S. Disease activity in systemic lupus erythematosus: report of the Consensus Study Group of the European Workshop for Rheumatology Research. II. Identification of the variables indicative of disease activity and their use in the development of an activity score. The European Consensus Study Group for Disease Activity in SLE. *Clin Exp Rheumatol*. 1992; 10(5):541-7.

Ben-Zvi I, Aranow C, Mackay M, Stanevsky A, Kamen DL, Marinescu LM, Collins CE, Gilkeson GS, Diamond B, Hardin JA. The impact of vitamin D on dendritic cell function in patients with systemic lupus erythematosus. *PLoS One*. 2010; 5(2):e9193.

Birmingham DJ, Hebert LA, Noonan WT, Rovin BH, Nagaraja HN, Yu CY. Evidence that abnormally large seasonal declines in vitamin D status may trigger SLE flare in non-African Americans. *Lupus*. 2012; 21(8):855-64.

Bogaczewicz J, Sysa-Jedrzejowska A, Arkuszewska C, Zabek J, Kontny E, McCauliffe D, Wozniacka A. Vitamin D status in systemic lupus erythematosus patients and its association with selected clinical and laboratory parameters. *Lupus*. 2012; 21(5):477-84.

Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum*. 1992; 35(6):630-40.

Bonakdar ZS, Jahanshahifar L, Jahanshahifar F, Gholamrezaei A. Vitamin D deficiency and its association with disease activity in new cases of systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2011; 20(11):1155-60.

Canalis E, Mazziotti G, Giustina A, Bilezikian JP. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int*. 2007; 18(10):1319-28.

Carvalho JF, Blank M, Kiss E, Tarr T, Amital H, Shoenfeld Yet al. Anti-vitamin D, vitamin D in SLE: preliminary results. *Ann N Y Acad Sci*. 2007; 1109:550-57.

Casella CB, Seguro LP, Takayama L, Medeiros D, Bonfa E, Pereira RM. Juvenile Onset Lupus: a possible role for vitamina D in disease status and bone. *Lupus*. 2012; 21(12):1335-42.

Chaiamnuay S, Chailurkit LO, Narongroeknawin P, Asavatanabodee P, Laohajaroensombat S, Chaiamnuay P. Current daily glucocorticoid use and serum creatinine levels are associated with lower 25(OH) vitamin D levels in Thai patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Rheumatol*. 2013; 19(3):121-5.

Cutolo M, Otsa K. Vitamin D, immunity and lupus. *Lupus*. 2008; 17(1):6-10.

Cutolo M. Vitamin D and Autoimmune Rheumatic Diseases. *Rheumatology*. 2009; 48(3):210-2.

De Borst MH, de Boer RA, Stolk RP, Slaets JP, Wolffenbuttel BH, Navis G. Vitamin D deficiency: universal risk factor for multifactorial diseases? *Curr Drug Targets*. 2011; 12(1):97-106.

DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80(6 Suppl.):1689-96.

Fuchs SC, Guimarães SM, Sortica C, Wainberg F, Dias KO, Ughini M, Castro JA, Fuchs FD . Reliability of race assessment based on the race of the ascendants: a cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2002; 2:1-5.
Epub 2002 Jan 16.

Garf KE, Marzouk H, Farag Y, Rasheed L, Garf AE. Vitamin D status in Egyptian patients with juvenile-onset systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int*. 2015 Mar 15. [Epub ahead of print].

Gatenby P, Lucas R, Swaminathan A. Vitamin D deficiency and risk for rheumatic diseases: an update. *Curr Opin Rheumatol*. 2013; 25(2):184-91.

Griffiths B, Mosca M, Gordon C. Assessment of patients with systemic lupus erythematosus and the use of lupus disease activity indices. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2005; 19(5):685-708.

Hamza RT, Awwad KS, Ali MK, Hamed AI. Reduced serum concentrations of 25-hydroxy vitamin D in Egyptian patients with systemic lupus erythematosus: Relation to disease activity. *Med Sci Monit*. 2011; 17(2):711-8.

Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997; 40(9):1725.

Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM; Endocrine Society . Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(7):1911-30.

Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007; 357(3):266-81.

Houghton KM, Tucker LB, Potts JE, McKenzie DC. Fitness, fatigue, disease activity, and quality of life in pediatric lupus. *Arthritis Rheum*. 2008; 59(4):537-45.

Hyppönen E. Vitamin D and increasing incidence of type 1 diabetes-evidence for an association? *Diabetes Obes Metab*. 2010; 12(9):737-43.

Kamen D, Aranow C. Vitamin D in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol*. 2008; 20(5):532-7.

Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev*. 2006; 5(2):114-7.

Kim HA, Sung JM, Jeon JY, Yoon JM, Suh CH. Vitamin D may not be a good marker of disease activity in Korean patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int*. 2011; 31(9):1189-94.

Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J, Steinberg AD. The fatigue severity scale: application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol*. 1989; 46(10):1121-3.

Mandal M, Tripathy R, Panda AK, Pattanaik SS, Dakua S, Pradhan AK, Chakraborty S, Ravindran B, Das BK. Vitamin D levels in Indian systemic lupus erythematosus patients: association with disease activity index and interferon alpha. *Arthritis Res Ther*. 2014; 16(1):R49.

Mattsson M, Möller B, Lundberg IL, Gard G, Boström G. Reliability and validity of the Fatigue Severity Scale in Swedish for patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol*. 2008; 37(4):269-77.

Mok CC, Birmingham DJ, Ho LY, Hebert LA, Song H, Rovin BH. Vitamin D deficiency as marker for disease activity and damage in systemic lupus erythematosus: a comparison with anti-dsDNA and anti-C1q. *Lupus*. 2012; 21(1):36-42.

Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA*. 2006; 296(23):2832-8.

Muñoz-Ortego J, Torrente-Segarra V, Prieto-Alhambra D, Salman-Monte TC, Carbonell-Abello J. Prevalence and predictors of vitamin D deficiency in non-supplemented women with systemic lupus erythematosus in the Mediterranean region: a cohort study. *Scand J Rheumatol*. 2012; 41(6):472-5.

Peracchi OA, Terreri MT, Muneke RV, Len CA, Sami RO, Lazaretti-Castro M, Hilário MO. Low serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D in children and adolescents with systemic lupus erythematosus. *Braz J Med Biol Res*. 2014; 47(8):721-6.

Petri M, Bello KJ, Fang H, Magder LS. Vitamin D in systemic lupus erythematosus: modest association with disease activity and the urine protein-to-creatinine ratio. *Arthritis Rheum*. 2013; 65(7):1865-71.

Ritterhouse LL, Crowe SR, Niewold TB, Kamen DL, Macwana SR, Roberts VC, Dedek AB, Harley JB, Scofield RH, Guthridge JM, James JA. Vitamin D deficiency is associated with an increased autoimmune response in healthy individuals and in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2011; 70(9):1569-74.

Robinson AB, Tangpricha V, Yow E, Gurion R, McComsey GA, Schanberg LE. Lupus Sci Med. Vitamin D deficiency is common and associated with increased C-reactive protein in children and young adults with lupus: an Atherosclerosis Prevention in Pediatric Lupus Erythematosus substudy. *Lupus*. 2014; 1(1):e000011.

Ruiz-Irastorza G, Egurbide M V, Olivares N, Martinez-Berriotxo A, Aguirre C. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus: prevalence, predictors and clinical consequences. *Rheumatology*. 2008; 47(6):920-3.

Ruiz-Irastorza G, Gordo S, Olivares N, Egurbide M V, Aguirra C. Changes in vitamin D levels in patients with systemic lupus erythematosus: Effects on fatigue, disease activity, and damage. *Arthritis Care Res*. 2010; 62(8):1160-5.

Sahebari M, Nabavi N, Salehi M. Correlation between serum 25(OH)D values and lupus disease activity: an original article and a systematic review with meta-analysis focusing on serum VitD confounders. *Lupus*. 2014; 23(11):1164-77.

Schmeding A, Schneider M. Fatigue, health-related quality of life and other patient-reported outcomes in systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2013; 27(3):363-7.

Schneider L, Dos Santos A, Santos M, da Silva Chakr R, Monticielo O. Vitamin D and systemic lupus erythematosus: state of the art. *Clin Rheumato*. 2014; 33(8):1033-8.

Stagi S, Cavalli L, Bertini F, Martino M, Cerinic MM, Brandi ML, Falcini F . Vitamin D levels in children, adolescents, and young adults with juvenile-onset systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study. *Lupus*. 2014; 23(10):1059-65.

Stockton KA, Kandiah DA, Paratz JD, Bennell KL. Fatigue, muscle strength and vitamin D status in women with systemic lupus erythematosus compared with healthy controls. *Lupus*. 2012; 21(3):271-8.

Szodoray P, Tarr T, Bazso A, Poor G, Szegedi G, Kiss E. The immunopathological role of vitamin D in patients with SLE: data from a single centre registry in Hungary. *Scand J Rheumatol*. 2011; 40(2):122-6.

Tench CM, McCurdie I, White PD, D'Cruz DP. The prevalence and associations of fatigue in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*. 2000; 39(11):1249-54.

Terrier B, Derian N, Schoindre Y *et al*. Restoration of regulatory and effector T cell balance and B cell homeostasis in systemic lupus erythematosus patients through vitamin D supplementation. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(5):R221.

Toloza SM, Cole DE, Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Vitamin D insufficiency in a large female SLE cohort. *Lupus*. 2010; 19(1):13-9.

Wortsman J, Matsuoka L, Chen T, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr*. 2000; 72(3):690-3.

Wright TB, Shults J, Leonard MB, Zemel BS, Burnham JM. Hypovitaminosis D is associated with greater body mass index and disease activity in pediatric systemic lupus erythematosus. *J Pediatr*. 2009; 155(2):260-5.

Wysenbeek AJ, Leibovici L, Weinberger A, Guedj D. Fatigue in systemic lupus erythematosus. Prevalence and relation to disease expression. *Br J Rheumatol*. 1993; 32(7):633-5.

Yang CY, Leung PS, Adamopoulos IE, Gershwin ME. The implication of vitamin D and autoimmunity: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2013; 45(2):217-26.

Yap KS, Northcott M, Hoi AB, Morand EF, Nikpour M. Association of low vitamin D with high disease activity in an Australian systemic lupus erythematosus cohort. *Lupus Sci Med*. 2015; 2(1):e000064.

Zold E, Barta Z, Bodolay E. Vitamin D deficiency and connective tissue disease. *Vitam Horm*. 2011; 86:261-86.

APÊNDICES

Apêndice A - Artigo aceito para publicação

Original Article

AIChE Journal
DOI 10.1002/aic.22621**A Randomized Double-blind Placebo-controlled Trial of Vitamin D Supplementation in Adolescents and Young Adults with Juvenile-onset SLE: Improvement in Disease Activity and Fatigue Scores**Glauce L Lima¹, Juliane Paupitz¹, Nadia E Aikawa^{1,2}, Liliam Takayama¹, Eloisa Bonfa¹, Rosa M R Pereira¹¹Division of Rheumatology, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brazil;²Pediatric Rheumatology Unit, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brazil

Funding statement : This study was supported by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ #301805/2013-0 and #472754/2013-0 to RMRP and #301411/2009-3 to EB), Federico Foundation (to RMRP and EB) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES to GLL)

Disclosure statement: The authors declared that they have no conflicts of interest.

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

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as
doi: 10.1002/aic.22621

© 2015 American Institute of Chemical Engineers (AIChE)

Received: Jan 22, 2015; Revised: Apr 14, 2015; Accepted: May 12, 2015

This article is protected by copyright. All rights reserved.

Abstract

Purpose: Vitamin D has an important immunomodulatory effect, but there are no trials that directly addressed the boosting of serum levels of 25-hydroxyvitamin D (25OHD) in Juvenile-onset Systemic Lupus Erythematosus (JoSLE). The aim of this study was to evaluate the effect of vitamin D supplementation on disease activity and fatigue in JoSLE. **Methods:** This study was a randomized double-blind placebo-controlled 24-week trial. Forty JoSLE patients were randomized (1:1) to receive oral cholecalciferol 50,000 IU/week (JoSLE-VitD) or placebo (JoSLE-PL). Medications remained stable throughout the study. Serum levels of 25OHD were measured using radioimmunoassay. Disease activity was assessed using the SLE Disease Activity Index (SLEDAI) and the European Consensus Lupus Activity Measurement (ECLAM). Fatigue was assessed using the Kids Fatigue Severity Scale (K-FSS). **Results:** At baseline, groups were similar regarding, age, body mass index, organ involvement, glucocorticoid dose, use of immunosuppressive drugs, SLEDAI, ECLAM, K-FSS and levels of 25OHD. After 24 weeks, the mean level of 25OHD was higher in the JoSLE-VitD group than in the JoSLE-PL ($p < 0.001$). At the end of intervention, a significant improvement in SLEDAI ($p = 0.010$) and a tendency for ECLAM ($p = 0.076$) was observed in the JoSLE-VitD group compared to the JoSLE-PL. Regarding fatigue evaluation, a reduction of fatigue related to social life score was found in the JoSLE-VitD group compared to the JoSLE-PL group ($p = 0.008$). Cholecalciferol was well tolerated with no serious adverse events. **Conclusion:** This study suggests that cholecalciferol supplementation for 24 weeks is effective in decreasing disease activity and improving fatigue in JoSLE patients.

Key-words: Juvenile onset systemic lupus erythematosus, vitamin D, cholecalciferol fatigue, disease activity, SLEDAI.

Significance and Innovations

- The first study with vitamin D supplementation in Juvenile onset Systemic Lupus Erythematosus.
- Cholecalciferol (50,000 IU/week) supplementation for 6 months resulted in adequate levels of 25OHD in 70% of JoSLE patients.
- Cholecalciferol (50,000 IU/week) supplementation for 6 months effectively decreased disease activity in JoSLE patients.
- Cholecalciferol (50,000 IU/week) supplementation for 6 months was associated with an improvement of fatigue in JoSLE patients.

Introduction

Recent studies have demonstrated that vitamin D plays an important role not only in bone health but also in the immune system [1]. The presence of vitamin D receptors on cells involved in the immune response and the discovery that dendritic cells express vitamin D receptors provide evidence for its immunomodulatory properties [2-5].

Vitamin D has effects on T and B cells and modulates their activation, with participation in the innate and adaptive immune system. In normal levels, this hormone may regulate B cells and antibody secretion [6-8]. Consequently, vitamin D deficiency has been particularly associated with autoimmune diseases such as multiple sclerosis, diabetes mellitus, rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus (SLE) [9-12].

In fact, previous studies have suggested an immunologic basis for the association of low levels of vitamin D and the onset or severity of SLE [13,14]. Moreover, vitamin D deficient SLE patients have higher levels of anti-dsDNA antibodies [12] and higher disease activity scores, involving particularly renal and haematological manifestations [14-17].

Regarding SLE symptoms, fatigue was reported in up to 81% of adult patients [18,19]. In spite of being a complex and nonspecific manifestation, several reports on adult lupus have suggested an association between fatigue and disease activity, including lymphopenia, musculoskeletal symptoms [18] and activity scores [19]; however, the data are still controversial [20,21]. Only one study evaluated fatigue in a juvenile lupus population, but vitamin D levels were not assessed [22].

Concerning juvenile systemic lupus erythematosus (JoSLE), there are few data in the literature with some evidence of a higher frequency of vitamin D deficiency in patients with JoSLE than in age-matched controls [23,24,25]. Our group also demonstrated an association of vitamin D deficiency (<20 ng/mL) and higher SLEDAI scores, supporting the notion that vitamin D supplementation could be beneficial for SLE patients [26].

There are, however, few studies of vitamin D supplementation in systemic lupus erythematosus [27-30] and none of them included juvenile patients. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of cholecalciferol supplementation in disease activity scores, fatigue and of JoSLE patients.

Accepted Article

Methods

This study was a randomized, double-blind, placebo-controlled study (Clinical Trial Registry NCT01892748) conducted at the Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, Brazil.

Study participants. From July 2012 to August 2013, 60 JoSLE patients were followed at the Juvenile Rheumatology Outpatient Clinic, University of São Paulo. Among them, forty-five female patients with JoSLE up to 25 years old who fulfilled the American College of Rheumatology (ACR) classification criteria of SLE [31] and presented symptoms before the age of 16 were consecutively selected.

Exclusion criteria were a SLEDAI score higher than 12 (to minimize the chance of treatment modification, including increase in glucocorticoids doses and association of immunosuppressive drugs during the study), other autoimmune disease or infectious conditions, renal impairment (serum creatinine >2.5 g/dL), history of renal stones, hypercalciuria, intestinal malabsorption, liver disease, any history of bone active drug use, pregnancy at study entry and refusal to participate in the study. Patients treated with high doses of methylprednisolone, cyclophosphamide or rituximab in the preceding 3 months were also excluded.

Randomization and blinding. Before randomization a three months washout of vitamin D was performed for all patients under this supplementation. The patients were randomized into two parallel groups: vitamin D supplementation (JoSLE-VitD) and placebo (JoSLE-PL). All patients and physicians were blinded to group assignment and treatment allocation. The first group received oral cholecalciferol 50,000 IU/week and the second group received identical placebo tablets for 6 months. All subjects were evaluated at baseline and after the end of supplementation for clinical and laboratory parameters. Adherence to vitamin D supplementation was assessed by pill counts of returned vitamin D tablets, and biweekly phone calls to patients.

Assessment and treatment protocol. Demographic characteristics and clinical/laboratorial/treatment data were obtained via a specific questionnaire and from an electronic medical record database established in 2001. Patients are routinely evaluated at baseline, 3 months and 6 months later in our outpatient clinic, including relevant clinical features for this study (diagnostic criteria, disease duration, body mass index (BMI), and medication use including mean daily dose of glucocorticoid (GC) and the use of immunosuppressive drugs).

Race was defined based on the patients' report of the self-reported race of two generations of their ancestors, as previously validated for the Brazilian population [32]. Those whose four grandparents were self-reported Caucasian were classified as white. The presence of mixed African and Caucasian ancestors, commonly referred to as mixed race, was classified as non-Caucasian. In the absence of racial information about grandparents, the participant's race was similarly determined by the race of their parents.

Photoprotection was recommended to all patients. Both groups were allowed to continue their ongoing standard therapy [glucocorticoid (GC), hydroxychloroquine (HCQ), immunosuppressants], provided the doses were kept stable. Minor elevation of GC was allowed, when necessary. None of the patients had taken vitamin D for at least 3 months prior to entry into the study.

Clinical Parameters. Disease activity was assessed using the Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) [33] and the European Consensus Lupus Activity Measurement (ECLAM) [34]. Disease activity scores were measured on the day the serum samples were drawn.

Fatigue. All patients completed a specific questionnaire to assess fatigue. This questionnaire was adapted from the Fatigue Severity Scale (FSS) [35], which was used previously for paediatric lupus patients [22]. These scores range from 1 to 7 with higher levels indicating higher fatigue. In this questionnaire, some variables were re-categorized as "going to school,"

"exercises," and "social life" since they were more appropriate for the children and adolescents' activities [22].

Laboratory evaluation. Serum levels of 25 hydroxyvitamin D (25OHD) were measured using a radioimmunoassay technique (DiaSorin, Stillwater, MN, USA) with a lower detection limit of 5 ng/mL, at baseline and after 6 months. Normal levels of vitamin D range from 30 to 100 ng/mL. Vitamin D insufficiency was defined as serum levels between 29 ng/ml and 20 ng/ml and serum levels lower than 20 ng/mL were classified as vitamin D deficiency [36]. The inter- and intra-assay coefficients of variation were 7.8% and 5.6%, respectively.

Anti-double-stranded DNA (anti-dsDNA) was detected by IIF using *Crithidia luciliae*. The measurement of serum complement was performed (C3 and C4) using immunoturbidimetry. The erythrocyte sedimentation rate (ESR) was measured using the Westergren method, and C-reactive protein (CRP) was measured by immunoturbidimetry. The serum levels of calcium and creatinine, the complete blood count and the 24-hour urinary protein level were determined using standard methods.

Safety and tolerability were also assessed at every visit. Treatment-related adverse events reported by patients were collected at each visit. A treatment-related adverse event was defined as any reported event first occurring or worsening in severity during treatment compared to the baseline period.

Statistical analysis. The data were expressed as the mean (SD) or median (range) or numbers (percentages). The continuous variables between the two groups were compared using Student's t-test or Mann-Whitney test. The categorical variables were compared using the chi-squared test and Fisher's exact test, as appropriate. Statistical significance was defined as a 2-sided p value < 0.05.

Ethics Committee Approval. The participants, or their guardians for minors, gave their written informed consent, and the study was approved by the Ethics Committee of the University Hospital.

Accepted Article

Results

Forty-five subjects were initially screened for participation. These patients were randomly assigned to the JoSLE-VitD group (n = 22) or the JoSLE-PL group (n = 23). Five patients withdrew for personal reasons or lost follow-up. Therefore, 40 subjects completed the trial and were analysed. Compliance to supplementation was similar in both groups (85% vs. 75%, $p=0.69$).

The baseline parameters of both groups are described in table 1. The anthropometric, clinical/laboratorial disease parameters were similar in the JoSLE-VitD and JoSLE-PL groups ($p>0.05$). Possible confounding factors for vitamin D levels, including BMI, race, season and proteinuria were comparable in both groups. The mean 25OHD serum level at baseline was 19.1 (6.4) in the JoSLE-VitD group vs. 19.5 (4.5) ng/ml in the JoSLE-PL group ($p=0.82$). The overall prevalence of vitamin D insufficiency in all JoSLE patients at baseline was 95%.

During the study period only two patients required minimal changes in treatment. One patient of JoSLE-VitD group needed an increase in prednisone dose from 5 to 10 mg/day due to articular activity refractory to non-steroidal anti-inflammatory drug. In another patient from JoSLE-PL group, prednisone was increased from 2.5 to 10 mg/day also for articular activity.

After 6 months of supplementation, the JoSLE-VitD patients presented higher levels of 25OHD than the JoSLE-PL patients [31.30 (8.6) vs. 16.56 (5.8), $p<0.001$]. Moreover, in the JoSLE-VitD group, 70% of the patients reached 25OHD levels >30 ng/ml compared to 0% in the JoSLE-PL group ($p<0.001$) (Table 2). Compliance to the pills in the JoSLE-VitD group was similar in patients with normal levels of 25OHD compared to those with insufficient levels after 24 weeks (86% vs. 83%, $p=1.0$). Furthermore, proteinuria levels were comparable between patients with 25OHD levels >30 ng/ml (n=14) versus ≤ 30 ng/ml (n=26) [165 (50 – 1104) vs. 325 (40 – 3740)mg/24h, $p=0.328$] at 6 months.

A significant improvement in SLEDAI scores [6M – Baseline: 0 (-4 – 5) vs. 1 (-12 – 6), $p=0.011$] and in ECLAM [0 (-2 – 1) vs. 0 (-6 – 3), $p=0.006$] was also observed in the JoSLE-Vit D group in comparison to the JoSLE-PL group (Table 3).

Concerning the domains associated with SLEDAI improvement in JoSLE-VitD group, anti-dsDNA became negative in fifteen percent of this group but in none of the JoSLE-PL group (15% vs. 0%, $p=0.03$), without significant differences for the other domains. The apparent reduction of cutaneous involvement in vitamin D group (5% vs. 0%, $p=0.66$), and improvement of articular manifestations in supplemented group (5%) compared to worsening (10%) in placebo group ($p=0.18$) did not reach statistical significance. Proteinuria level was similar before and after vitamin D supplementation (180 vs. 200mg/24h, $p=0.32$) and no significant correlation was observed between proteinuria and SLEDAI at baseline ($r=0.019$, $p=0.93$).

The patients who received vitamin D supplementation (cholecalciferol 50,000 IU/week) had a better global score of fatigue at the end of the study than the placebo group [3.15 (1.44) vs. 4.30 (1.33), $p=0.012$]. The analysis of specific items of the K-FSS revealed a significant improvement for social life in the JoSLE-VitD group compared to the JoSLE-PL group [-0.95 (1.95) vs. 0.60 (1.53), $p=0.008$]. Moreover, after 24 weeks of supplementation, the fatigue scores, including fatigue easily, fatigue during exercise, fatigue to medium efforts and fatigue considered a problem, were significantly better in the JoSLE-VitD group than in the JoSLE-PL group ($P<0.05$) (Table 4).

The supplementation was well tolerated with no safety difference between the two groups. Six patients (4 in the intervention group and 2 in the placebo group) reported epigastric pain but without discontinuation of therapy. Serum and urinary calcium levels were within the normal ranges at baseline and after 6 months of evaluation in both groups (Table 2). All results were within the normal ranges. No serious adverse events were recorded.

Discussion

Our study demonstrated for the first time that vitamin D supplementation (cholecalciferol 50,000 IU/week for 6 months) improves disease activity and fatigue in Juvenile onset Systemic Lupus Erythematosus.

The comparable baseline weight, BMI, glucocorticoid use and hydroxychloroquine allowed for a more accurate analysis of the effect of vitamin D supplementation. In fact, weight can be a confounding factor because 25OHD is fat soluble and lower levels of this hormone in overweight individuals may be a consequence of a larger volume of this vitamin [37, 38]. Moreover, it is suggested that hydroxychloroquine inhibits 25OHD conversion to 1,25OHD and consequently increases 25OHD levels [38]. Furthermore, glucocorticoids can influence vitamin D serum levels [39] and glucocorticoids have some action that counteracts 25OHD effects [40].

Vitamin D has important immunomodulatory effects, including immune stability in the innate and adaptive immune systems, such as a decrease in Th1 CD4+ T cells and cytokines, an increase of regulatory T cells, the inhibition of differentiation of dendritic cells and the prevention of the proliferation of activated B cells [5,7,41,42,43]. Vitamin D deficiency seems to contribute to increased B cell activation in patients with SLE and increased production of autoantibodies in genetically susceptible individuals [43,44]. Accordingly, a significant reduction in anti-dsDNA frequency was observed herein for JoSLE patients under vitamin D supplementation in, reinforcing previous findings in adults showing a decrease in antibodies, particularly a reduction in anti-dsDNA antibodies in adult Egyptian and French lupus patients [28,30].

Low levels of this hormone have been associated with a higher prevalence and disease activity in SLE [38]. In fact, a previous study in adult SLE showed a significant association between decrease in vitamin D levels and diseases flares, especially for those flares occurring during low daylight months [45]; thus, adjustment of vitamin D levels may be useful in the treatment of B cell-mediated conditions such as SLE. Supporting this notion, we have previously reported in a cross-sectional study that JoSLE patients with lower levels of vitamin D presented higher SLEDAI scores [26], a finding also reported in several studies of adult SLE [14,16]. We

further demonstrate in the present prospective study that 6 months of Vitamin D supplementation is effective in inducing a significant improvement in disease activity (SLEDAI), predominantly associated with the anti-dsDNA antibody domain of this score. Vitamin D deficiency has also been previously associated with elevated C-reactive protein levels in children and young adults with SLE. [46,47].

Of note, in our study besides laboratory improvement, a decrease in fatigue score also observed in JoSLE-VitD group points to a clinically significant effect of Vitamin D, as this is a common and disabling complaint in active lupus patients.

The dose used was 50,000 IU in accordance with Holick et al, which showed that 50,000 IU/week of vitamin D after 8 weeks could increase vitamin serum levels in most individuals [36]. Other protocols were also reported to be effective in inducing an immune modulator effect in adult lupus, such as supplementation with daily 2,000 IU of cholecalciferol for 12 months and supplementation with 100,000 IU of vitamin D per week for 4 weeks, followed by 100,000 IU/month for 6 months [30,28].

Fatigue severity may be related to psychosocial, disease and treatment-related factors. In lupus patients, fatigue can be profound and often affects an individual's ability to function [23]. Concerning fatigue scores, our study demonstrated that patients who were vitamin D supplemented showed an improvement in many aspects of the fatigue scores and most significantly in social life, including percentage change of this last parameter. The improvement on this item is particularly important in adolescent/young patients. Also, an increased of sample size could improve these significant results. In fact, several studies have reported high rates of fatigue in patients with juvenile lupus [22,48]. In our study, we used the Kids Fatigue Severity Scale (K-FSS), an adapted and validated Fatigue Severity Scale (FSS) that has been used in juvenile lupus patients [22]. Similar to our findings, Ruiz Istagrosa et al [27] demonstrated a decrease of fatigue symptoms after vitamin D supplementation in adult lupus patients using a less specific fatigue visual analogue scale (VAS).

In conclusion, vitamin D replacement is well tolerated and may improve immune modulation in patients with juvenile onset systemic lupus erythematosus and may decrease disease activity scores and fatigue. A therapeutic intervention may be recommended in patients with deficient levels of 25OHD. However, large multicentre trials are still necessary to better assess this finding.

Acknowledgments

We thank Valeria F Caparbo and Jackeline C Alvarenga for technical support and Dr. Rogerio Ruscitto for statistical analysis.

References

1. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1689-96.
2. De Borst MH, de Boer RA, Stolk RP, Slaets JP, Wolffenbuttel BH, Navis G. Vitamin D deficiency: universal risk factor for multifactorial diseases? *Curr Drug Targets* 2011; 12: 97-106.
3. Holick MF. Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266-281.
4. Kamen D, Aranow C. Vitamin D in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20: 532-7.
5. Zold E, Barta Z, Bodolay E. Vitamin D deficiency and connective tissue disease. *Vitam Horm* 2011; 86: 261-86.
6. Yang CY, Leung PS, Adamopoulos IE, Gershwin ME. The implication of vitamin D and autoimmunity: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol* 2013; 45: 217-26.
7. Gatenby P, Lucas R, Swaminathan A. Vitamin D deficiency and risk for rheumatic diseases: an update. *Curr Opin Rheumatol* 2013; 25: 184-91.
8. Cutolo M, Otsa K. Vitamin D, immunity and lupus. *Lupus* 2008; 17: 6-10.
9. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006; 296: 2832-8.
10. Hyppönen E. Vitamin D and increasing incidence of type 1 diabetes-evidence for an association? *Diabetes Obes Metab* 2010; 12: 737-43.

11. Antico A, Tampoia M, Tozzoli R, Bizzaro N. Can supplementation with vitamin D reduce the risk or modify the course of autoimmune diseases? A systematic review of the literature. *Autoimmun Rev* 2012; 12: 127-36.
12. Mandal M, Tripathy R, Panda AK *et al.* Vitamin D levels in Indian systemic lupus erythematosus patients: association with disease activity index and interferon alpha. *Arthritis Res Ther* 2014; doi: 10.1186/ar4479.
13. Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2006; 5: 114-7.
14. Bonakdar ZS, Jahanshahifar L, Jahanshahifar F, Gholamrezaei A. Vitamin D deficiency and its association with disease activity in new cases of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2011; 20: 1155-60.
15. Cutolo M, Otsa K, Paolino S, Yprus M, Veldi T, Serio B. Vitamin D involvement in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 446-7.
16. Amital H, Szekanecz Z, Szücs G *et al.* Serum concentrations of 25-OH vitamin D in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) are inversely related to disease activity: is it time to routinely supplement patients with SLE with vitamin D? *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 155-7.
17. Hamza RT, Awwad KS, Ali MK, Hamed AI. Reduced serum concentrations of 25-hydroxy vitamin D in Egyptian patients with systemic lupus erythematosus: Relation to disease activity. *Med Sci Monit* 2011; 17: 711-8.
18. Wysenbeek AJ, Leibovici L, Weinberger A, Guedj D. Fatigue in systemic lupus erythematosus. Prevalence and relation to disease expression. *Br J Rheumatol* 1993; 32: 633-5.
19. Tench CM, McCurdie I, White PD, D'Cruz DP. The prevalence and associations of fatigue in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2000; 39(11): 1249-54.
20. Stockton KA, Kandiah DA, Paratz JD, Bennell KL. Fatigue, muscle strength and vitamin D status in women with systemic lupus erythematosus compared with healthy controls. *Lupus* 2012; 21: 271-8.
21. Ruiz-Irastorza G, Egurbide M V, Olivares N, Martinez-Berriotxo A, Aguirre C. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus: prevalence, predictors and clinical consequences. *Rheumatology* 2008; 47: 920-3.
22. Houghton KM, Tucker LB, Potts JE, McKenzie DC. Fitness, fatigue, disease activity, and quality of life in pediatric lupus. *Arthritis Rheum* 2008; 59: 537-45.

23. Wright TB, Shults J, Leonard MB, Zemel BS, Burnham JM. Hypovitaminosis D is associated with greater body mass index and disease activity in pediatric systemic lupus erythematosus. *J Pediatr* 2009; 155: 260-5.
24. Peracchi OA, Terreri MT, Munekata RV *et al.* Low serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D in children and adolescents with systemic lupus erythematosus. *Braz J Med Biol Res* 2014; 47: 721-6.
25. Stagi S, Cavalli L, Bertini F *et al.* Vitamin D levels in children, adolescents, and young adults with juvenile-onset systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study. *Lupus* 2014; 23: 1059-65.
26. Casella CB, Seguro LP, Takayama L, Medeiros D, Bonfa E, Pereira RM. Juvenile Onset Lupus: a possible role for vitamina D in disease status and bone. *Lupus* 2012; 21: 1335-42.
27. Ruiz-Irastorza G, Gordo S, Olivares N, Egurbide M V, Aguirra C. Changes in vitamin D levels in patients with systemic lupus erythematosus: Effects on fatigue, disease activity, and damage. *Arthritis Care & Research* 2010; 62: 1160-5.
28. Terrier B, Derian N, Schoindre Y *et al.* Restoration of regulatory and effector T cell balance and B cell homeostasis in systemic lupus erythematosus patients through vitamin D supplementation. *Arthritis Res Ther* 2012; doi: 10.1186/ar4060.
29. Petri M, Bello KJ, Fang H, Magder LS. Vitamin D in systemic lupus erythematosus: modest association with disease activity and the urine protein-to-creatinine ratio. *Arthritis Rheum* 2013; 65: 1865-71.
30. Abou-Raya A, Abou-Raya S, Helmii M. The effect of vitamin D supplementation on inflammatory and hemostatic markers and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus: a randomized placebo-controlled trial. *J Rheumatol* 2013; 40: 265-72.
31. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725.
32. Fuchs SC, Guimarães SM, Sortica C *et al.* Reliability of race assessment based on the race of the ascendants: a cross-sectional study. *BMC Public Health* 2002; 2: 1-5.
33. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 630-40.
34. Bencivelli W, Vitali C, Isenberg DA *et al.* Disease activity in systemic lupus erythematosus: report of the Consensus Study Group of the European Workshop for Rheumatology Research. III. Development of a computerized clinical chart and its

- application to the comparison of different indices of disease activity. The European Consensus Study Group for Disease Activity in SLE. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10: 549-54.
35. Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J, Steinberg AD. The Fatigue Severity Scale: Application to Patients with Multiple Sclerosis and Systemic Lupus Erythematosus. *Arch Neurol* 1989; 46: 1121-3.
36. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA *et al.* Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 1911-30.
37. Wortsman J, Matsuoka L, Chen T, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 690-3.
38. Sahebari M, Nabavi N, Salehi M. Correlation between serum 25(OH)D values and lupus disease activity: an original article and a systematic review with meta-analysis focusing on serum VitD confounders. *Lupus* 2014; 23: 1164-77.
39. Chaiamnuay S, Chailurkit LO, Narongroeknawin P, Asavatanabodee P, Laohajaroensombat S, Chaiamnuay P. Current daily glucocorticoid use and serum creatinine levels are associated with lower 25(OH) vitamin D levels in Thai patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Rheumatol* 2013; 19: 121-5.
40. Canalis E, Mazziotti G, Giustina A, Bilezikian JP. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int*. 2007; 18: 1319-28.
41. Aronson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1137-42.
42. Cutolo M. Vitamin D and Autoimmune Rheumatic Diseases. *Rheumatology* 2009; 48: 210-2.
43. Schneider L, Dos Santos A, Santos M, da Silva Chakr R, Monticelo O. Vitamin D and systemic lupus erythematosus: state of the art. *Clin Rheumatol* 2014; 33: 1033-8.
44. Ritterhouse LL, Crowe SR, Niewold TB, *et al.* Vitamin D deficiency is associated with an increased autoimmune response in healthy individuals and in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2011; 70: 1569-74.
45. Birmingham DJ, Hebert LA, Noonan WT, *et al.* Evidence that abnormally large seasonal declines in vitamin D status may trigger SLE flare in non-African Americans. *Lupus* 2012; 21:855-64.
46. Robinson AB, Tangpricha V, Yow E, Gurion R, McComsey GA, Schanberg LE; APPLE Investigators. Vitamin D deficiency is common and associated with increased C-reactive protein in children and young adults with lupus: an Atherosclerosis Prevention in

Pediatric Lupus Erythematosus substudy. Lupus Erythematosus substudy. *Lupus Sci Med.* 2014; 1: e000011.

47. Kiani AN, Fang H, Magder LS, Petri M. Vitamin D deficiency does not predict progression of coronary artery calcium, carotid intima-media thickness or high-sensitivity C-reactive protein in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2013; 52: 2071-6.

48. Schmeding A, Schneider M. Fatigue, health-related quality of life and other patient-reported outcomes in systemic lupus erythematosus *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2013; 27:363-7.

Accepted Article

Table 1. Baseline parameters of JoSLE patients according to treatment group.

Parameters	JoSLE-vitD N = 20	JoSLE-PL N = 20	P
Age, yrs	18.5 (3.5)	19.3 (3.3)	0.46
Race			
Caucasian (%)	70	75	0.73
Non-Caucasian (%)	30	25	0.73
Season			
Winter (%)	45	40	0.76
Spring (%)	40	35	0.75
Summer (%)	15	25	0.44
Body mass index, kg/m ²	22.8 (3.9)	24.2 (5.3)	0.36
Skin involvement (%)	25	30	0.80
Polyarthritis (%)	5	5	1.00
Hematological (%)	45	55	0.64
Renal disease (%)	10	20	0.42
Proteinuria, mg/day	180 (50 - 1127)	195 (50 - 1700)	0.55
Glucocorticoid current use (%)	80	85	0.68
Glucocorticoid current use, mg/day	11.90 (9.4)	14.12 (9.15)	0.42
Hydroxychloroquine current use (%)	80	85	0.68
Immunosuppressant current use (%)	85	75	0.44
Azathioprine (%)	65	50	0.35
Mycophenolate Mofetil (%)	15	25	0.44
Methotrexate (%)	15	15	1
Anti-dsDNA positive (%)	45	40	0.75
C3, mg/dL	85.75 (27.5)	91.05 (24.5)	0.52
C4, mg/dL	14.34 (6.7)	14.40 (9.6)	0.97
Serum PTH, pg/mL	32.85 (15.8)	28.6 (10.7)	0.32
Serum creatinine, mg/dL	0.65 (0.1)	0.70 (0.2)	0.25
Serum calcium, mg/dL	9.4 (0.5)	9.1 (0.5)	0.11

Data are expressed as the mean (SD) and percentage.

SLEDAI: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index; ECLAM: European Consensus Lupus Activity Measurement; PTH: Parathormone

Table 2. 25 hydroxyvitamin D (25OHD) serum levels at baseline and after 6 months of intervention in JoSLE patients according to treatment group.

	JoSLE- VitD	JoSLE- PL	P
	N = 20	N = 20	
Baseline			
25OHD, ng/mL	19.1(6.4)	19.5 (4.5)	0.82
25OHD <30 ng/mL (%)	90	100	0.15
25OHD <20 ng/mL (%)	60	45	0.35
Serum calcium, mg/dL	9.4 (0.5)	9.1 (0.5)	0.11
Urinary calcium, mg/24h	90.63 (54.4)	90.6 (56.3)	0.948
24 weeks			
25OHD, ng/mL	31.3 (8.7)	16.5 (5.8)	<0.001
25OHD <30 ng/mL (%)	30	100	<0.001
25OHD <20 ng/mL (%)	10	75	<0.001
Serum calcium, mg/dL	9.4 (0.4)	9.2 (0.4)	0.1
Urinary calcium, mg/24h	89.3 (62.5)	89.9 (64.4)	0.971

Data are expressed as the mean (SD) or percentage

Table 3. Disease Activity Scores (SLEDAI and ECLAM) at baseline and after 6 months (6M) of intervention in JoSLE patients according to treatment group.

Score	JoSLE-VitD N = 20	JoSLE-PL N = 20	P
SLEDAI			
Baseline	4 (0 – 8)	3 (0 – 12)	0.829
6M	3.00 (3.22)	5.40 (4.50)	0.060
Change (6M - Baseline)	0 (-4 – 5)	1 (-12 – 6)	0.011
ECLAM			
Baseline	2 (0 – 5)	0 (0 – 6)	0.903
6M	1.80 (1.64)	2.75 (2.12)	0.121
Change (6M - Baseline)	0 (-2 – 1)	0 (-6 – 3)	0.006

Data are expressed as the mean (SD) or median (range)

SLEDAI: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index;

ECLAM: European Consensus Lupus Activity Measurement

Table 4. Analysis of Fatigue in JoSLE Patients levels at baseline and after 6 months (6M) of intervention in JoSLE patients according to treatment group

	JoSLE-VitD N=20	JoSLE-PL N=20	P
Unable to perform activities without fatigue			
Baseline	5.00 (1.89)	5.05 (2.06)	0.936
6M	4.00 (2.29)	4.80 (2.01)	0.248
Change (6M - Baseline)	-1.00 (2.38)	-0.25 (1.61)	0.251
Fatigue when performing exercises			
Baseline	4.65 (2.03)	4.90 (1.99)	0.697
6M	4.00 (2.00)	5.35 (1.72)	0.027
Change (6M - Baseline)	-0.65 (1.92)	0.45 (2.25)	0.105
Fatigue easily			
Baseline	3.65 (1.95)	4.40 (2.16)	0.257
6M	3.05 (1.70)	4.75 (1.77)	0.003
Change (6M - Baseline)	-0.60 (2.25)	0.35 (1.72)	0.143
Fatigue to medium efforts			
Baseline	3.65 (2.03)	4.20 (1.90)	0.383
6M	3.20 (1.70)	4.55 (1.73)	0.017
Change (6M - Baseline)	-0.45 (2.16)	0.35 (1.72)	0.203
Fatigue considered a problem			
Baseline	3.05 (1.87)	3.60 (1.53)	0.316
6M	2.95 (1.50)	4.10 (1.65)	0.026
Change (6M - Baseline)	-0.10 (1.68)	0.50 (1.27)	0.211
Fatigue chronically			
Baseline	3.05 (1.60)	3.85 (1.66)	0.129
6M	3.10 (1.83)	3.90 (1.61)	0.151
Change (6M - Baseline)	0.05 (1.60)	0.05 (1.46)	0.999
Fatigue considered the worst problem			
Baseline	2.65 (1.49)	3.40 (1.63)	0.138
6M	2.60 (1.60)	3.60 (1.53)	0.051
Change (6M - Baseline)	-0.05 (1.53)	0.20 (1.32)	0.584
Fatigue interfering in school life			
Baseline	3.35 (1.69)	3.90 (1.51)	0.286
6M	2.85 (1.59)	3.60 (1.53)	0.138
Change (6M - Baseline)	-0.50 (1.84)	-0.30 (1.34)	0.697
Fatigue interfering in social life			
Baseline	3.55 (1.98)	3.50 (1.73)	0.932
6M	2.60 (1.60)	4.10 (1.88)	0.010
Change (6M - Baseline)	-0.95 (1.95)	0.60 (1.53)	0.008

Data are expressed as the mean (SD)

Apêndice B - Tema Livre apresentado

O presente estudo foi apresentado no 2014 American College of Rheumatology Annual Meeting - ACR 2014 (Boston, MA, USA), como apresentação oral.

----- Forwarded Message -----

From: "abstracts@rheumatology.org" <abstracts@rheumatology.org>

Sent: Monday, August 25, 2014 2:13 PM

Subject: 2014 ACR/ARHP Abstract Acceptance Notification

We are pleased to inform you that the ACR/ARHP Abstract Selection Committee has accepted your abstract titled *"A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial of Vitamin D Supplementation in Juvenile-Onset Systemic Lupus Erythematosus: Improvement in Disease Activity and Fatigue Scores"* as an oral presentation at the 2014 ACR/ARHP Annual Meeting, to be held in Boston, MA.

The schedule for your presentation is as follows: Session Type: Oral

Session Name: Pediatric Rheumatology - Clinical and Therapeutic Aspects: Pediatric Systemic Lupus Erythematosus

Date and Session Time: Monday, November 17, 2014; 2:30 PM - 4:00 PM

Presentation Time: 2:30 PM - 2:45 PM

Location: Boston Convention and Exhibition Center: 157 B

Presentation Number: 1799

2014 ACR/ARHP Annual Meeting Planning Committee.