

GIOVANA GOMES RIBEIRO

**CALCIFICAÇÃO PREMATURA DE ARTÉRIAS CORONÁRIAS NO LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO: ASSOCIAÇÃO COM DURAÇÃO DE DOENÇA
E DENSIDADE MINERAL ÓSSEA**

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

Área de concentração: Reumatologia

Orientador: Profa. Dra. Eloísa Bonfá

Co-orientador: Profa. Dra. Rosa Maria R. Pereira

São Paulo

2008

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

©reprodução autorizada pelo autor

Ribeiro, Giovana Gomes

Calcificação prematura de artérias coronárias no lúpus eritematoso sistêmico :
associação com duração de doença e densidade mineral óssea / Giovana Gomes
Ribeiro. -- São Paulo, 2008.

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

Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Reumatologia.

Orientadora: Eloísa Bonfá

Co-orientadora: Rosa Maria Rodrigues Pereira.

Descritores: 1.Lúpus eritematoso sistêmico 2.Aterosclerose 3.Anomalias dos
vasos coronários 4.Fatores de risco 5.Densidade óssea 6.Tomografia computadorizada
por raios X

AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que colaboraram no desenvolvimento deste trabalho e na minha carreira profissional, em especial:

À minha orientadora, **Profa. Dra. Eloísa Silva Dutra de Oliveira Bonfá**, Titular da Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo grande exemplo de profissionalismo e competência, e em especial por ter me aberto as portas do Serviço de Reumatologia da FMUSP tornando possível minha inserção e a concretização deste trabalho.

À minha co-orientadora, **Profa. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira**, pela presença constante e enorme disponibilidade em todos os momentos deste trabalho, meu mais profundo respeito e admiração. Não sei como agradecer-lhe todo o carinho e ensinamentos dispensados durante nossa convivência.

Às biólogas **Valéria de Falco Caparbo** e **Lilium Takayama** pela dedicação, disponibilidade e paciência no decorrer desta pesquisa.

A todos os **assistentes da Disciplina de Reumatologia do HC-FMUSP**, que contribuíram direta ou indiretamente na concretização deste trabalho.

Aos **residentes**, pelo auxílio na seleção dos pacientes da presente pesquisa.

Às **secretárias Cláudia Reis de Oliveira, Marta Caggiano, Iná Silva dos Santos e Maria de Fátima Correia da Silva**, pelo pronto interesse na resolução das dificuldades relacionadas à pós-graduação.

À **Dra. Eloísa Santiago Gebrim e Dr. Joseph Elias Benabou**, assistentes do Departamento de Radiologia, por tornarem possível a realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. João Carlos Tavares Brenol e Prof. Dr. Ricardo Machado Xavier**, por terem me apresentado à Reumatologia, pelos ensinamentos e rigor técnico-científico na atuação com os pacientes e pelo apoio incondicional em todos os caminhos que trilhei.

Aos **pacientes**, motivo e estímulo para quem este trabalho se desenvolveu, meu sincero respeito e agradecimento. Este trabalho tem como objetivo tentar proporcionar-lhes maior qualidade de vida.

À **Dona Dora Lancmann**, minha mãe paulistana. O que era para ser um mês de acolhida transformou-se em dois anos de aprendizado e convivência, e uma vida inteira de admiração e respeito.

E finalmente, aos meus **pais e irmãos**, indiscutivelmente a razão principal de minhas lutas e conquistas, por sempre incentivarem e tornarem possíveis meus sonhos.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a relevância de fatores de risco tradicionais para doença cardiovascular (FRC), fatores relacionados ao lúpus e densidade mineral óssea (DMO) na calcificação prematura de artérias coronárias (CAC) em mulheres jovens com lúpus eritematoso sistêmico (LES).

Métodos: Noventa e quatro pacientes lúpicas do sexo feminino com duração de doença ≥ 5 anos e idade menor que 45 anos foram selecionadas consecutivamente para este estudo. Os fatores de risco cardiovascular analisados foram: diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, dislipoproteinemia, fumo, índice de massa corpórea (IMC), insuficiência ovariana e renal. Fatores de risco relacionados ao LES estudados foram: duração de doença, critérios ACR, SLICC/ACR modificado (excluindo escores relacionados à aterosclerose), SLEDAI, tratamento com glicocorticóide e ciclofosfamida. A densidade mineral óssea de corpo inteiro, coluna lombar e colo do fêmur foram realizadas por densitometria de dupla emissão de fontes de raios-X (DXA). Calcificação de artérias coronárias foi determinada usando tomografia computadorizada com 16 multidetectores.

Resultados: Calcificação prematura de artérias coronárias foi identificada em 12 (12,7%) dos pacientes, havendo associação com maior frequência de pacientes com FRC ($p=0,008$), maior número de FCR ($p=0,003$), idade ($p=0,025$), duração de doença ($p=0,011$) e SLICC ($p=0,011$). A análise individual dos FRC demonstrou que a presença de menopausa ($p=0,036$),

dislipidemia ($p=0,003$) e hipertensão ($p=0,006$) foram significativamente associados com calcificação coronariana. Análise de regressão logística múltipla usando FRC, idade, duração de doença, SLICC e DMO de corpo inteiro revelou que apenas duração de doença ($p=0,042$) e DMO de corpo inteiro ($p=0,023$) permaneceram fatores significantes para calcificação coronariana.

Conclusão: Identificamos que duração de doença e DMO reduzida são preditores independentes para calcificação coronariana prematura em mulheres jovens com LES, sugerindo um mecanismo subjacente comum.

SUMMARY

Objective: To evaluate the relevance of traditional cardiovascular risk factors (CVR), disease-related risk factors and bone mineral density (BMD) for premature coronary artery calcification (CAC) in young female systemic lupus erythematosus (SLE).

Methods: Ninety-four female SLE patients ≥ 5 years disease duration and age < 45 years were consecutively selected for this study. Cardiovascular risks (CVR) analyzed were: diabetes mellitus, arterial hypertension, dyslipoproteinemia, smoking, body mass index (BMI), ovarian and renal insufficiency. SLE-related risk factors evaluated were: disease duration, ACR criteria, modified SLICC/ACR (excluding atherosclerosis-related scores), SLEDAI, glucocorticoid and cyclophosphamide treatment. Bone mineral density (BMD) in whole body, lumbar spine and femoral neck was assessed by dual X-ray absorptiometry (DXA). Coronary artery calcification was determined using the 16-slice multidetector computed tomography.

Results: Premature coronary artery calcification was identified in 12 (12.7%) patients and was associated with a higher frequency of patients with CVR ($p=0.008$), a higher mean number of CVR ($p=0.003$), mean age ($p=0.025$), mean disease duration ($p=0.011$) and mean SLICC ($p=0.011$). Individual analysis of CVR demonstrated that the presence of menopause ($p=0.036$), dyslipidemia ($p=0.003$) and hypertension ($p=0.006$) were significantly associated with coronary calcification. Additionally, premature calcification was

associated with a lower whole body BMD ($p=0.013$). Multiple logistic regression analysis using CVR, age, disease duration, SLICC and whole body BMD revealed that only disease duration ($p=0.042$) and whole body BMD ($p=0.023$) remained significant factors for coronary calcification.

Conclusion: We have identified that disease duration and decreased BMD are independent predictors for premature coronary calcification in young women with SLE, suggesting a common underlying mechanism.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACR	American College of Rheumatology
CAC	calcificação arterial coronariana
CT	colesterol total
DM	diabetes mellitus
DMO	densidade mineral óssea
dsDNA	ácido desoxirribonucléico de dupla hélice
ELISA	ensaio imuno enzimático
FRC	fatores de risco cardiovascular
HAS	hipertensão arterial sistêmica
HDL	colesterol ligado à lipoproteína de densidade alta
IC	intervalo de confiança
Ig M	imunoglobulina M
Ig G	imunoglobulina G
LDL	colesterol ligado à lipoproteína de densidade baixa
LES	lúpus eritematoso sistêmico
OR	odds ratio
SLEDAI	systemic lupus erythematosus disease activity index
SLICC	SLE international collaborating damage index
TG	triglicerídeos

SUMÁRIO

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVO	04
3. PACIENTES E MÉTODOS	06
3.1. Pacientes	07
3.2. Exames laboratoriais	08
3.3. Densitometria óssea	09
3.4. Tomografia computadorizada	10
3.5. Análise estatística	11
4. RESULTADOS	12
5. DISCUSSÃO	18
6. CONCLUSÕES	22
7. ANEXOS	24
7.1. Ficha de coleta de dados.....	25
7.2. Termo de consentimento livre e esclarecido	26
7.3. Artigo original submetido à publicação em periódico	29
8. REFERÊNCIAS	57

1. INTRODUÇÃO

A taxa de mortalidade em pacientes com LES é 3 a 5 vezes maior que na população em geral [1] e a aterosclerose parece ser um fator de contribuição importante [2]. De fato, estudos têm demonstrado que aterosclerose de carótidas [3], calcificação coronariana [4] e eventos cardiovasculares [5,6] são mais freqüentemente observados nestes pacientes. Em relação aos eventos cardiovasculares um risco 50 vezes maior foi demonstrado em lúpicas comparadas com mulheres na mesma faixa etária [7].

Diversos investigadores têm sugerido que pacientes lúpicos tendem a ter um maior número de fatores de risco tradicionais para doença arterial coronariana [8,9,10] comparados à população controle. No entanto, estes fatores têm falhado em explicar totalmente a aterosclerose acelerada no lúpus, uma vez que o risco permaneceu maior após ajuste para estas variáveis [2].

Por outro lado, fatores associados à doença poderiam explicar em parte o excesso de risco e a precocidade da aterosclerose no lúpus [11]. O efeito deletério da terapia com glicocorticóide é principalmente decorrente de seu poder de desencadear ou exacerbar outros fatores de risco cardiovasculares reconhecidos como dislipoproteinemia, hiperglicemia, hipertensão e obesidade [12]. Além disso, disfunção renal está associada com calcificação vascular em decorrência da elevação do hormônio da paratireóide e do desequilíbrio no metabolismo mineral [13]. Síndrome nefrótica e proteinúria têm um efeito adverso no perfil lipídico justificando seu conhecido papel aterogênico no LES [14]. Maior duração de doença também parece influenciar o processo aterosclerótico [15].

Recentemente, estudos epidemiológicos e experimentais têm sugerido que a aterosclerose e a osteoporose compartilham mecanismos regulatórios comuns, com diversas vias bioquímicas semelhantes [16,17], além das duas doenças aumentarem com o envelhecimento. O desequilíbrio no metabolismo mineral pode induzir alterações fenotípicas em células vasculares promovendo calcificação [18,19]. Associação de calcificação vascular com fraturas osteoporóticas [20,21] e da progressão de calcificações vasculares com a taxa de declínio na densidade mineral óssea têm sido descritas reforçando a idéia de mecanismos fisiopatológicos semelhantes [20,22].

A avaliação concomitante de fatores de risco cardiovascular tradicionais, fatores associados à doença lúpica e a massa óssea parece ser crucial para determinar de forma independente a contribuição destes parâmetros na aterosclerose coronariana. Além disso, a seleção de um grupo jovem oferece oportunidade única de minimizar o papel da idade neste processo.

2. OBJETIVO

Avaliar a relevância dos fatores de risco cardiovascular tradicionais, dos fatores de risco associados à doença lúpica e da densidade mineral óssea na calcificação prematura de artérias coronárias (CAC) em mulheres jovens com lúpus eritematoso sistêmico (LES).

3. PACIENTES E MÉTODOS

3.1. Pacientes:

Noventa e quatro mulheres com LES foram consecutivamente selecionadas dentre as pacientes lúpicas em seguimento no Ambulatório de Reumatologia da Universidade de São Paulo. Todas as pacientes preenchem ao menos quatro dos critérios revisados do Colégio Americano de Reumatologia para classificação de LES [23]. Os critérios de inclusão foram idade menor que 45 anos e duração de doença maior ou igual a 5 anos. Os dados foram obtidos através de um protocolo de dados eletrônico aplicado a todos os pacientes, com intervalo de 1-6 meses, que consistia numa extensa avaliação clínica e laboratorial, incluindo aquelas relevantes para este estudo. Os fatores de risco cardiovasculares tradicionais foram definidos como: diabetes mellitus (história de diabetes mellitus em tratamento com dieta, agente hipoglicemiante ou insulina; ou com glicemia de jejum ≥ 126 mg/dl), hipertensão arterial sistêmica (pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg ou pressão arterial diastólica ≥ 90 mmHg), dislipoproteinemia (CT ≥ 200 mg/dl, LDL colesterol ≥ 130 mg/dl ou TG ≥ 150 mg/dl, ou em uso de agente hipolipemiante) [24], tabagismo atual ou prévio, menopausa (definida como amenorréia por 12 meses consecutivos sem outra causa biológica identificada) [25] e insuficiência renal crônica (definida como redução na taxa de filtração glomerular menor que 60 ml/min/1,73 m² por no mínimo 3 meses) [26].

Ao ingressar no estudo as pacientes foram submetidas à anamnese e exame físico de acordo com protocolo padrão que incluía: informações demográficas, medidas antropométricas, fatores de risco para doença cardiovascular, duração de doença, número de critérios ACR, dose atual e

máxima de glicocorticóide, pulso de ciclofosfamida e metilprednisolona. Atividade de doença e dano cumulativo foram medidos no dia de ingresso no estudo, usando o escores SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) [27] e SLICC/ACR DI (Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR Damage Index) [28] excluindo as seguintes variáveis cardiovasculares (escore SLICC modificado): angina, infarto do miocárdio e cirurgia de revascularização coronariana [11]. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, e consentimento informado foi obtido de todos os participantes.

3.2. Exames Laboratoriais:

Peso e altura foram aferidos e amostras de sangue foram coletadas para análise após jejum de 12 horas. Colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG) foram medidos enzimaticamente nas amostras de soro (Boehringer Mannheim, Argentina and Merck, Germany, respectively) num aparelho RA 1000 (Technicon Instruments Corp) [29,30]. O colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL colesterol) foi obtido após precipitação do colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL colesterol) do soro e do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL colesterol) através do ácido fosfotúngstico e cloreto de magnésio [31]. O colesterol da lipoproteína de baixa

densidade (LDL colesterol) foi estimado, uma vez que todas as amostras tinham triglicerídeos abaixo de 400 ml/dL usando a equação [32]:

$$TC = HDL + TG/5 + LDL$$

Anticorpos antinúcleo foram detectados por imunofluorescência indireta. (IFI) usando células HEp-2 como substrato. Anti-DNA de dupla hélice (anti-dsDNA) foi detectado também por IFI utilizando o protozoário *Crithidia luciliae* como antígeno. A dosagem dos níveis séricos de complemento (C3 e C4) foi realizada por nefelometria. Ensaio de hemaglutinação com extrato de timo de coelho foi utilizado para determinar os anticorpos contra as proteínas RNP e Sm [33]. A presença de anticorpos anticardiolipina (ACL) IgG ou IgM foi analisada por ELISA, como descrito previamente [34]. Anticoagulante lúpico foi determinado pelo método do veneno de víbora de Russel modificado.

3.3. Densidade Mineral Óssea:

A densidade mineral óssea (DMO) foi avaliada nos pacientes por DXA (densitometria de dupla emissão de fontes de raios-X) usando o densitômetro Hologic (Hologic Inc. Bedford, MA, USA, Discovery model), na região de coluna lombar (L1-L4), no colo do fêmur e corpo inteiro. Os coeficientes de variação para densidade mineral óssea em nosso laboratório foram 0,7% para coluna lombar (L1-L4), 1,5% para colo do fêmur e 1,2% para corpo inteiro.

3.4. Tomografia Computadorizada:

A calcificação de artérias coronárias foi estudada através de aparelho de tomografia computadorizada de 16 multidetectores Philips Mx8000 IDT-16 (Philips Medical, Koninklijke, Nederland) através de protocolo padrão. As imagens adquiridas foram estudadas numa estação de trabalho Extended Brilliance TM. O escore total de cálcio coronariano foi calculado utilizando o método de Agatston. De forma breve, os escores de cálcio coronariano são gerados usando um programa de computador que extrai para análise os pixels acima de 130 unidades obtidos das imagens das artérias coronárias a cada 3 mm de espessura, dentro de uma região de interesse definida pelo operador. Todos os pixels acima de 130 e maiores que 1 mm dentro das artérias coronárias são considerados como sendo cálcio. Um programa semi-automatizado foi usado para calcular o escore de Agatston. A soma dos escores de todas as lesões arteriais fornece o escore total para cada indivíduo. O escore de Agatston é uma medida quantitativa da extensão da calcificação coronariana que leva em conta a área e a densidade das placas calcificadas [35]. Dois radiologistas especializados em investigação cardiovascular que desconheciam o quadro clínico dos pacientes estudaram todos os exames e emitiram laudo em concordância.

3.5. Análise Estatística:

Os resultados foram expressos em média \pm desvio-padrão (DP). Comparações entre pacientes lípicos com calcificação arterial coronariana (grupo LES + CAC) e sem esta complicação (grupo LES) foram feitas através de teste t de Student não pareado ou teste não paramétrico de Mann-Whitney para variáveis contínuas. Diferenças na prevalência de variáveis categóricas entre os grupos foram examinadas usando teste exato de Fisher. Todas as análises utilizaram um nível de significância estatística bi-caudal de 5 por cento. Análise de regressão logística múltipla foi usada para analisar a associação entre CAC (variável dependente) e as variáveis que atingiram significância estatística na análise univariada (idade, duração de doença, SLICC, presença de FRC e DMO de corpo inteiro). O nível de significância estatística adotado foi $p < 0.05$.

4. RESULTADOS

As noventa e quatro pacientes com LES foram subdivididas em dois grupos de acordo com a presença (grupo LES + CAC) ou ausência (grupo LES) de calcificação coronariana prematura. Esta complicação foi identificada em 12 (12,7%) pacientes com um escore de Agatston médio de 25,01 (intervalo:1,8 – 122). Apenas um paciente teve este escore > 100. A avaliação dos dados demográficos e antropométricos revelou que o grupo LES + CAC teve maior média de idade ($37,16 \pm 4,15$ vs. $33,03 \pm 6,05$ anos, $p=0,025$), DMO similar ($28,46 \pm 4,82$ vs. $26,42 \pm 5,09$ Kg/m², $p=0,196$), e predomínio de raça branca (75 vs. 61%, $p=0,348$) quando comparados ao grupo LES. Com relação aos fatores de risco relacionados à doença, pacientes com CAC tinham maior duração de doença ($16,33 \pm 5,09$ vs. $12,46 \pm 4,78$ anos, $p=0,011$) e SLICC médio maior ($2,67 \pm 1,56$ vs. $1,41 \pm 1,57$, $p=0,011$) a despeito da média de critérios ACR ($p=0,476$) e escore SLEDAI ($p=0,115$) similares. A frequência de envolvimento de órgãos alvo foi semelhante em pacientes com e sem CAC ($p>0,05$). Em relação aos marcadores sorológicos, nenhum esteve associado com a presença de CAC ($p>0,05$) (Tabela 1). O uso de corticosteróide foi similar nos dois grupos de pacientes de acordo com três variáveis analisadas: dose atual ($6,46 \pm 7,27$ vs. $9,56 \pm 13,42$ mg, $p=0,437$), dose máxima via oral ($56,67 \pm 11,55$ vs. $54,39 \pm 14,34$ mg, $p=0,60$) e dose de pulso de metilprednisolona ($2,75 \pm 2,70$ vs. $1,95 \pm 2,80$ g, $p=0,356$). Por outro lado, a dose média de pulso de ciclofosfamida ($7,33 \pm 6,80$ vs. $4,57 \pm 7,38$ g, $p=0,225$), a porcentagem do uso de ciclofosfamida (58,3 vs. 40,2%, $p=0,237$), de azatioprina (83,3 vs. 75,6%, $p=0,555$) e antimaláricos (66,7 vs. 74,4%, $p=0,572$) foi similar entre os pacientes com e sem CAC.

Tabela 1. Fatores de risco associados ao LES em pacientes lúpicas com e sem calcificação arterial coronariana (CAC).

	LES+CAC (n=12)	LES (n=82)	P
Duração de doença, anos	16,33 ± 5,09	12,46 ± 4,78	0,011
Critérios ACR, n	6,33 ± 1,30	6,66 ± 1,49	0,476
SLEDAI, n	1,33 ± 1,76	3,05 ± 3,66	0,115
SLICC, n	2,67 ± 1,56	1,41 ± 1,57	0,011
ENVOLVIMENTO DE ÓRGÃOS			
Articular, %	100	100	1,00
Mucocutâneo, %	100	97,6	0,584
Serosite, %	50	24,4	0,064
Hematológico, %	50	58,5	0,576
Renal, %	58,3	53,7	0,761
Neurológico, %	8,3	26,8	0,164
ANTICORPOS			
Anti-DNAn, %	25	54,9	0,053
Anti-Sm, %	50	25,6	0,081
Anticardiolipina-IgG, %	25	43,9	0,215
Anticardiolipina-IgM, %	33,3	23,2	0,444
Anticoagulante lúpico, %	33,3	17	0,244

O grupo LES + CAC apresentou um percentual maior de pacientes com FRC (83,3 vs. 42,7%, p=0,008) e um maior número de FRC (2 ± 1,21 vs. 0,90 ± 1,16, p=0,003) que o grupo LES. Além disso, a porcentagem de pacientes com

menopausa (33,3 vs. 10,9%, $p=0,036$), dislipoproteinemia (58,3 vs. 19,5%, $p=0,003$) e hipertensão arterial (66,6 vs. 26,82%, $p=0,006$) foi maior no grupo com CAC quando comparado àqueles sem esta complicação. A frequência de tabagismo (33,3 vs. 18,3%, $p=0,226$), diabetes mellitus (0 vs. 7,32%, $p=0,333$) e insuficiência renal (8 vs. 7,32%, $p=0,900$) foi semelhante entre ambos os grupos (Tabela 2). Pacientes lúpicos com CAC apresentaram níveis maiores de colesterol total ($206,88 \pm 43,23$ vs. $157,09 \pm 30,49$ mg/dl, $p<0,0001$), colesterol LDL ($130,46 \pm 35,51$ vs. $82,60 \pm 27,02$ mg/dl, $p<0,0001$) e triglicerídeos ($151,30 \pm 106,92$ vs. $98,42 \pm 70,63$ mg/dl, $p=0,026$) quando comparados ao grupo LES. Não houve diferença quanto aos níveis observados de HDL ($57,90 \pm 16,98$ vs. $55,19 \pm 16,21$ mg/dl, $p=0,591$).

Tabela 2. Fatores de risco cardiovascular (FRC) tradicionais em pacientes lúpicos com e sem calcificação arterial coronariana.

	LES+CAC (n=12)	LES (n=82)	P
Presença de FRC, %	83,3	42,7	0,008
Menopausa, %	33,3	10,9	0,036
Dislipoproteinemia, %	58,3	19,5	0,003
Hipertensão arterial, %	66,6	26,82	0,006
Tabagismo, %	33,3	18,3	0,226
Diabetes mellitus, %	0	7,32	0,333
Insuficiência renal crônica, %	8	7,32	0,900

A DMO de corpo inteiro foi menor no grupo LES + CAC quando comparada ao grupo LES ($0,974 \pm 0,089$ vs. $1,042 \pm 0,083$ g/cm², $p=0,013$), enquanto uma redução limítrofe foi também observada na DMO de colo de fêmur ($0,697 \pm 0,099$ vs. $0,761 \pm 0,105$ g/cm², $p=0,052$). Nenhuma diferença foi encontrada na DMO de coluna lombar ($0,908 \pm 0,107$ vs. $0,932 \pm 0,126$ g/cm², $p=0,519$) (Tabela 3).

Tabela 3. Densidade mineral óssea (DMO) em pacientes lúpicas com e sem calcificação arterial coronariana (CAC).

DMO	LES+CAC (n=12)	LES (n=82)	P
L1-L4, g/cm ²	0,908±0,107	0,932±0,126	0,519
Colo de fêmur, g/cm ²	0,697±0,099	0,761±0,105	0,052
Corpo inteiro, g/cm ²	0,974±0,089	1,042±0,083	0,013

Análise de regressão logística multivariada usando variáveis que apresentaram significância estatística na análise univariada (idade, duração de doença, SLICC, presença de FRC, densidade mineral óssea de corpo inteiro) revelou que apenas duração de doença (OR=1,175, IC 95%=1,005-1,374, $p=0,042$) e DMO de corpo inteiro (OR=0,330, IC 95%=0,127-0,857, $p=0,023$) permaneceram como fatores de risco independentes para CAC.

Tabela 4. Análise de regressão logística usando calcificação arterial coronariana (CAC) como variável dependente.

	Z	P	OR	IC 95%
Idade	0,58	0,564	1,052	0,885-1,250
Duração de doença	2,03	0,042	1,175	1,005-1,374
SLICC	0,73	0,468	1,175	0,759-1,821
FRC	1,70	0,090	5,801	0,759-44,30
DMO corpo inteiro	-2,28	0,023	0,330	0,127-0,857

FRC: Fatores de risco cardiovascular

DMO: Densidade mineral óssea

5. DISCUSSÃO

Identificamos que duração de doença e DMO de corpo inteiro são preditores independentes para calcificação coronariana prematura no LES.

A seleção de pacientes do sexo feminino abaixo dos 45 anos de idade foi definida como um aspecto essencial para avaliar a aterosclerose prematura nesta doença, uma vez que idade é conhecida como o principal fator contribuinte para esta complicação [15,36,37]. A idade limite escolhida baseou-se na incidência significativamente baixa de eventos cardiovasculares em mulheres abaixo dos 45 anos de idade [38]. De fato, o impacto desta importante variável de confusão foi difícil de determinar em muitos estudos prévios de calcificação coronariana no LES, uma vez que os pacientes acima de 40 anos representavam mais de 70% destas coortes [4,39].

A importância do sexo no perfil de risco coronariano tem sido documentada em grandes coortes de indivíduos saudáveis [40] e pacientes lúpicos [4]. Conseqüentemente, a exclusão de pacientes do sexo masculino, por terem sabidamente escores de CAC significativamente maiores que o sexo feminino quando comparados por faixa etária [41], foi essencial para a interpretação de nossos resultados.

A presença de calcificação coronariana é extremamente incomum em mulheres abaixo dos 50 anos estudadas através de Electrom Beam Tomography [38,40]. Não foi considerada ética a realização do estudo em um grupo controle uma vez que a distribuição da CAC em indivíduos saudáveis, estratificados por idade e sexo, está bem definida em grandes estudos populacionais [41] e em decorrência da necessidade de alta exposição a raios X em mulheres jovens. A frequência de 13% observada em pacientes lúpicos é bastante superior à que poderíamos esperar numa população saudável

pareada por idade [4,41]. Este achado é, no entanto, menor que o relatado por outros estudos em pacientes lúpicos [4,39] e pode provavelmente ser explicado pelas diferenças em relação à idade média [4,10,39,42,43] e pela inclusão de pacientes do sexo masculino [4,39,42]. A média do escore de CAC, embora menor que as reportadas em outras populações de pacientes com LES [4,39], pode representar um subgrupo com aumento no risco para eventos cardiovasculares, uma vez que escores maiores que zero têm sido associados com esta complicação, mesmo em mulheres classificadas como de baixo risco segundo o escore de Framingham [44].

Em relação aos fatores de risco tradicionais, confirmamos estudos prévios que identificaram elevação dos níveis de colesterol total, LDL e triglicérides como sendo as principais alterações no perfil lipídico em pacientes com LES [45,46]. Os fatores de risco mais frequentemente observados na análise univariada em nossa população na foram idade, hipertensão arterial, menopausa e dislipoproteinemia, corroborando outros estudos prévios [8,11], embora essa significância não tenha se mantido quando foi realizada a análise multivariada nesta população lúpica jovem.

Dentre os fatores relacionados à doença, apenas duração de doença mostrou associação com achados de CAC de forma independente em relação à idade. De fato, a exclusão no presente estudo de pacientes mais velhas forneceu oportunidade única de melhor distinguir o impacto da idade em relação à duração de doença, enquanto em estudos prévios não foi possível discriminar claramente, em decorrência do reconhecido aumento da incidência de CAC com a idade [4,10,39,43]. Por outro lado, não conseguimos identificar a associação entre o envolvimento decorrente da doença em um órgão

específico e fatores de risco cardiovascular, embora geralmente seja aceito que insuficiência renal grave e síndrome nefrótica contribuam para o desenvolvimento da aterosclerose [10,43]. Da mesma forma, a conhecida contribuição dos corticosteróides como fatores metabólicos de risco cardiovascular [11,47] não parecem ter contribuído para os achados de CAC em nossos pacientes.

Além disso, a relevante associação observada entre calcificação prematura de artérias coronárias e baixa DMO sugere um mecanismo comum nestas duas condições, mais provavelmente inflamação [16]. Consistente com esta hipótese, demonstramos que a calcificação vascular grave na arterite de Takayasu está inversamente associada com densidade mineral óssea [48], assim como observado em um pequena coorte de pacientes lúpicos [49].

Nossos resultados indicam que duração de doença e baixa DMO são preditores independentes para calcificação prematura coronariana em mulheres jovens com LES. Assim, os benefícios de estratégias terapêuticas visando reverter o possível efeito do desequilíbrio do metabolismo ósseo sobre a progressão de calcificações vasculares permanece a ser determinado em estudos futuros.

6. CONCLUSÕES

Identificamos que a duração de doença e a densidade mineral óssea reduzida são preditores independentes para calcificação prematura de artérias coronárias em mulheres jovens com LES, sugerindo um mecanismo subjacente comum.

ANEXO 7.1

PROTOCOLO

NOME:.....
REGISTRO/HC:.....TELEFONE:.....
ENDEREÇO:.....
IDADE:.....IDADE/DIAGNOSTICO:.....DATA/DIAGNOSTICO:.....
ANOS/DOENÇA:.....SEXO:.....RAÇA:.....
CRITÉRIOSDIAGNOSTICOS:.....
MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS:
MEDICAÇÕES EM USO:
MEDICAÇÕES JÁ USADAS:.....
DOSE ATUAL PRED:.....DOSE CUMULATIVA PRED:.....
DOSE ATUAL CLOROQUINA:.....TEMPO USO CLOROQUINA:.....
DOENÇAS ASSOCIADAS:.....
FAT RISCO DAC:
PA:PESO:.....ALTURA:.....IMC:.....HF DAC prematura:.....
CT:.....HDL:.....LDL:.....TRIGLICERIDEOS:.....
FSH:.....Estradiol:.....
SLEDAI:.....SLICC:.....
VHS:.....C3:.....C4:.....DNA:.....
cardiolipina IgM:.....IgG:.....anticoagulante lúpico:.....
Hb:.....LEU.....LINF:.....PLAQUETAS:.....Ur:.....Cr:.....
TP:.....TTPA:.....

DO / /	coluna	colo fêmur	fêmur total	corpo inteiro
g/cm ²				
T				
Z				

TC CORONÁRIAS: escore cálcio.....

ANEXO 7.2

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO..... Nº
APTO.....BAIRRO:.....CIDADE:.....
CEP:.....TELEFONE:DDD(.....) :

2. RESPONSÁVEL LEGAL:
NATUREZA (grau e parentesco, tutor, curador etc.):
DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO:..... Nº APTO:
BAIRRO:..... CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA :
AVALIAÇÃO DA CALCIFICAÇÃO DE ARTÉRIAS CARÓTIDAS E CORONÁRIAS EM PACIENTES COM LUPUS ÉRITEMATOSO SISTÊMICO: CORRELAÇÃO COM MARCADORES DO METABOLISMO ÓSSEO.

2. PESQUISADOR: Giovana Gomes Ribeiro.
CARGO/FUNÇÃO: pós gradanda INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº : 25603 (CREMERS)
UNIDADE DO HCFMUSP: REUMATOLOGIA

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO	<input checked="" type="checkbox"/>	RISCO MÍNIMO	<input checked="" type="checkbox"/>	RISCO MÉDIO	<input checked="" type="checkbox"/>
RISCO BAIXO	<input checked="" type="checkbox"/>	RISCO MAIOR	<input checked="" type="checkbox"/>		

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : QUATRO ANOS .

II - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

1. Justificativa e os objetivos da pesquisa: Você está convidado a participar desse estudo onde iremos avaliar se mulheres com lupus eritematoso sistêmico apresentam osteoporose associada com depósito de cálcio nas artérias do pescoço e do coração.
2. Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais: Caso você concorde em participar deste estudo, você realizará densitometria óssea (tipo de RX para avaliação de osteoporose), ultra-som das artérias do pescoço e tomografia computadorizada das artérias do coração para verificar placas de aterosclerose nestes locais. Coletaremos sangue para realizar exames relacionados ao osso e aos vasos sanguíneos. Se você apresentar fatores de risco para doença dos vasos do coração, uma angiotomografia que irá ver os seus vasos também será realizada.
3. Desconfortos e riscos esperados: Os exames laboratoriais apresentam como único desconforto a picada da agulha durante a coleta do sangue. O ultra-som de carótidas não apresenta nenhum risco. Na densitometria óssea e tomografia de artérias coronárias você recebe uma pequena dose de radiação sem qualquer problema. Se você fizer a angiotomografia, uma dose de contraste será dada, com risco de alergia e alteração do rim.
4. Benefícios que poderão ser obtidos: Podemos fazer o diagnóstico precoce de comprometimento cardíaco e osteoporose e deste modo o seu tratamento será mais adequado.
5. Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo: Não se aplica.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

1. Acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas:

Estará disponível o telefone 30667213 para contato e esclarecimento de quaisquer dúvidas com a médica responsável Dra. Giovana G Ribeiro.

2. Liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.

Você terá liberdade de sair do estudo a qualquer momento, mantendo atendimento normal no ambulatório de reumatologia do HCFMUSP.

3. Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade:

Os dados sobre os pacientes serão mantidos em sigilo, com acesso apenas dos pesquisadores.

4. Disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.

Caso você tenha algum problema, você será atendido no Serviço de Reumatologia do HCFMUSP.

5. Viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

Não está prevista indenização para este estudo por não se esperar nenhum problema na realização desses exames.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Laboratório de Metabolismo Ósseo com Dra. Giovana Gomes Ribeiro, telefone 30667213

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 20

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)

ANEXO 7.3

PREMATURE CORONARY ARTERY CALCIFICATION (CAC) IS ASSOCIATED WITH DISEASE DURATION AND BONE MINERAL DENSITY IN YOUNG FEMALE SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS (SLE)

Giovana G Ribeiro, Eloisa Bonfá, Julie Abe*, Roberto Sasdeli Neto*, Eduardo F Borba, Jaqueline B Lopes, Eloísa Gebrim*, Rosa M R Pereira
Rheumatology Division and Radiology Department*, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brazil

Giovana G. Ribeiro, MD, Research Fellow;

Eloisa Bonfá, MD, PhD, Full Professor

Julie Abe, MD, Medical Assistant

Roberto Sasdeli Neto, MD, Medical Assistant

Eduardo F Borba, MD, PhD, Medical Assistant

Jaqueline B Lopes, MD, Research Fellow;

Eloísa Gebrim, MD, PhD, Assistant Professor

Rosa M. Pereira, MD, PhD, Associated Professor

Address correspondence:

Rosa Maria Rodrigues Pereira, MD, PhD

Disciplina de Reumatologia, Faculdade de Medicina da USP

Av. Dr. Arnaldo 455, 3^o andar, Sala 3105

São Paulo – SP 01246-903 , Brazil.

Phone/FAX: 55-11-30617490

E-mail: rosamariarp@yahoo.com, ebonfa@lim17.fm.usp.br

Running head: Premature coronary artery calcification in SLE

ABSTRACT

Objective: To evaluate the relevance of traditional, disease-related risk factors and bone mineral density for premature coronary artery calcification (CAC) in young female systemic lupus erythematosus (SLE).

Methods: Ninety-four female SLE patients ≥ 5 years disease duration and age < 45 years were consecutively selected for this study. Cardiovascular risks (CVR) analyzed were: diabetes mellitus, arterial hypertension, dyslipoproteinemia, smoking, body mass index (BMI), ovarian and renal insufficiency. SLE-related risk factors evaluated were: disease duration, ACR criteria, modified SLICC/ACR (excluding atherosclerosis-related scores), SLEDAI, glucocorticoid and cyclophosphamide treatment. Bone mineral density (BMD) in whole body, lumbar spine and femoral neck was assessed by dual X-ray absorptiometry (DXA). Coronary artery calcification was determined using the 16-slice multidetector computed tomography.

Results: Premature coronary artery calcification was identified in 12 (12.7%) patients and was associated with a higher frequency of patients with CVR ($p=0.008$), a higher mean number of CVR ($p=0.003$), mean age ($p=0.025$), mean disease duration ($p=0.011$) and mean SLICC ($p=0.011$). Individual analysis of CVR demonstrated that the presence of menopause ($p=0.036$), dyslipidemia ($p=0.003$) and hypertension ($p=0.006$) were significantly associated with coronary calcification. Additionally, premature calcification was associated with a lower whole body BMD ($p=0.013$). Multiple logistic regression analysis using CVR, age, disease duration, SLICC and whole body BMD revealed that only disease duration ($p=0.042$) and whole body BMD ($p=0.023$) remained significant factors for coronary calcification.

Conclusion: We have identified that disease duration and decreased BMD are independent predictors for premature coronary calcification in young women with SLE, suggesting a common underlying mechanism.

INTRODUCTION

The mortality rate in SLE patients is 3 to 5 times greater than in the general population [1] and atherosclerosis seems to be an important contributing factor [2]. In fact, studies have demonstrated that carotid atherosclerosis [3], coronary calcification [4] and cardiovascular events [5,6] are more frequently observed in these patients. This latter risk may reach an excess of >50-fold in younger women with lupus [7].

Several investigators have suggested that lupus patients tend to have a higher number of risk factors for coronary arterial diseases [8,9,10] compared to control population. However, these factors have failed to totally explain accelerated atherosclerosis in lupus, since the risk remained high after the adjustment for these variables [2].

On the other hand, disease-related factors may underlie this excess and premature risk of atherosclerosis in lupus [11]. The potential detrimental effect of glucocorticoid therapy is mainly based on its exacerbation of other recognized risk factors such as dyslipoproteinemia, hyperglycemia, hypertension and obesity [12]. In addition, renal impairment is associated with vascular calcification due to elevated parathyroid hormone levels and disrupted mineral metabolism [13]. Nephrotic syndrome and proteinuria have an adverse effect on lipid profile supporting their known proatherogenic role in SLE [14]. Longer disease duration also seems to influence the atherosclerotic process [15].

Recent epidemiological and experimental studies have suggested that atherosclerosis and osteoporosis may share a common regulatory mechanism

which coincides in many biochemical pathways [16,17] and in the increased incidence with age. Mineral metabolic imbalances may induce phenotype changes in vascular cells promoting calcification [18,19]. Indeed, vascular calcification was reported to be associated with osteoporotic fractures [20,21] and progression of vascular calcifications was also associated with the rate of decline in BMD [20,22].

The relevance of a concomitant evaluation of traditional cardiovascular risk factors, disease factors and bone mass may be crucial to determine the independent contribution of them to coronary atherosclerosis. In addition, the selection of a younger age group provides a unique opportunity to minimize the role of age in this process.

PATIENTS AND METHODS

Patients. Ninety-four female SLE patients were consecutively selected among our lupus patients attending the Rheumatology Outpatient Clinics of the University of São Paulo. All of them fulfilled 4 or more of the revised American College of Rheumatology criteria for the classification of SLE [23]. Inclusion criteria were age <45 years old and disease duration ≥ 5 years. Data were obtained in an ongoing electronic database protocol carried out for all patients at 1-6 months intervals which consists of an extensive clinical and laboratory evaluation, including those relevant for this study. Traditional cardiovascular risk factors (CVR) were defined as: diabetes mellitus (a history of DM on diet, oral hypoglycemic agent or insulin, or fasting sugar ≥ 7.0 mmol/l), arterial hypertension (systolic BP ≥ 140 mmHg or a diastolic BP ≥ 90 mmHg), dyslipoproteinemia (CT ≥ 5.18 mmol/l, LDL cholesterol ≥ 3.37 mmol/l or TC ≥ 3.89 mmol/l or on lipid lowering agent) [24], current or previous smoking, menopause (defined as amenorrhea for 12 consecutive months and no other biological cause can be identified) [25] and chronic renal insufficiency (defined as decreased kidney glomerular filtration rate of less than 60 ml/min/1.73 m² for 3 or more months) [26] .

At entry SLE patients underwent a clinical interview and examination according to a standard protocol that included demographic information, anthropomorphic measures, risk factors for cardiovascular disease, disease duration, number of ACR criteria, current and maximum dose of glucocorticoid, cyclophosphamide and methylprednisolone pulse. SLE disease activity and cumulative damage were measured on the day of the assessment, using the Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) [27] and the

Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR Damage Index (SLICC/ACR DI) [28] excluding the following cardiovascular variables (modified SLICC score): angina, myocardial infarction and coronary artery bypass surgery [11]. The study was approved by the Local Ethics Committee and informed consent was obtained from all patients.

Laboratory assessment. Height and weight were assessed and blood samples were obtained for baseline analysis with 12-hour fasting. Total cholesterol (TC) and triglycerides (TG) in serum samples were measured enzymatically (Boehringer Mannheim, Argentina and Merck, Germany, respectively) on a RA 1000 Analyzer (Technicon Instruments Corp) [29,30]. High density lipoprotein cholesterol (HDL) was obtained after precipitation of very low density lipoprotein cholesterol (VLDL) from serum and low density lipoprotein cholesterol (LDL) by phosphotungstic acid and magnesium chloride [31]. LDL was estimated, since all samples had triglycerides less than 400 mg/dL using the equation: $TC = HDL + TG/5 + LDL$ [32].

Antinuclear antibodies were detected by indirect immunofluorescence (IIF) using HEp-2 cells as substrate. Anti-double-stranded DNA (anti-dsDNA) was also detected by IIF using *Crithidia luciliae*. Measurement of serum complement was performed (C3 and C4) by nephelometry. A hemagglutination assay with rabbit thymus extract was used to determine antibody to RNP and Sm proteins [33]. The presence of anticardiolipin antibody (ACL) IgG and IgM was analyzed by ELISA, as described elsewhere [34]. Lupus anticoagulant was determined by a modified Dilute Russel Viper Venom method.

Bone mineral density

The bone mineral density (BMD) was measured by dual X-ray absorptiometry (DXA) using Hologic bone densitometry equipment (Hologic Inc. Bedford, MA, USA, Discovery model) at regions: lumbar spine, femoral neck and whole body. Coefficients of variance for bone mineral density in our laboratory were 0.7% for lumbar spine (L1-L4), 1.5% for femoral neck and 1.2% for whole body.

Image acquisition and evaluation

Coronary artery calcification was assessed by a Philips Mx8000 IDT-16 multislice computed tomography (Philips Medical, Koninklijke, Nederland) with a standard protocol. The acquired images were reloaded into an Extended Brilliance TM workstation. The total coronary artery calcium score was calculated using the Agatston method. Briefly, coronary artery calcium scores are generated using the computer program, which extracts the pixels above 130 units within an operator-defined region of interest in each 3-mm-thick image of the coronary arteries. All pixels >130 units and larger than 1 mm within the coronary arteries are considered to be calcium. Semi-automated software was used to calculate the "Agatston score". The sum of the scores for all arterial lesions provides an overall score for each subject. The Agatston score is a quantitative measure of the extent of coronary calcification which takes into account the area and density of calcified plaques [35]. Two cardiovascular radiology experts unaware of the subjects' clinical status read all the scans and results were presented after agreement.

Statistical analyses: Values were expressed as mean \pm standard deviation (SD). Comparisons between SLE patients with coronary arterial calcification (SLE+CAC group) and without this complication (SLE group) were made by non-paired t-tests or Mann-Whiney tests for continuous variables. Differences in prevalence of categorical variables between groups were examined using Fisher's exact test. All analyses used a two-sided significance level of 5 percent. Multiple logistic regression analysis was used to analyze association between CAC (dependent variable) and the following variables found to be statistically significant in the univariate analysis (age, disease duration, SLICC, presence of CVR and whole body BMD). Statistical significance was set at $p < 0.05$.

RESULTS

The ninety-four SLE patients were subdivided into two groups according to the presence (SLE+CAC group) or absence (SLE group) of premature coronary calcification. This complication was identified in 12 (12.7%) patients with a mean Agatston score of 25.01 (range: 1.8 -122). Only one patient had this score >100. The evaluation of demographic and anthropometric data revealed that the SLE+CAC group had a higher mean age (37.16 ± 4.15 vs. 33.03 ± 6.05 years, $p=0.025$), similar BMI (28.46 ± 4.82 vs. 26.42 ± 5.09 Kg/m², $p=0.196$) and white race predominance (75 vs. 61%, $p=0.348$) compared to the SLE group. With regard to disease-related risk factors, patients with CAC had a longer disease duration (16.33 ± 5.09 vs. 12.46 ± 4.78 years, $p=0.011$) and higher mean SLICC (2.67 ± 1.56 vs. 1.41 ± 1.57 , $p=0.011$) in spite of similar mean ACR criteria ($p=0.476$) and mean SLEDAI ($p=0.115$) (Table 1). The frequency of organ involvement was alike in patients with and without CAC ($p>0.05$). Among the serological markers, none were associated with the presence of CAC ($p>0.05$) (Table 1). Corticosteroid use was similar in the two groups of patients according to the three variables analyzed: current dose (6.46 ± 7.27 vs. 9.56 ± 13.42 mg, $p=0.437$), maximum oral dose (56.67 ± 11.55 vs. 54.39 ± 14.34 mg, $p=0.60$) and methylprednisolone pulse dose (2.75 ± 2.70 vs. 1.95 ± 2.80 g, $p=0.356$). Likewise, the mean cyclophosphamide pulse dose (7.33 ± 6.80 vs. 4.57 ± 7.38 g, $p=0.225$), the percentage of cyclophosphamide use (58.3 vs. 40.2%, $p=0.237$), azathioprine use (83.3 vs. 75.6%, $p=0.555$) and antimalarials use (66.7 vs. 74.4%, $p=0.572$) were similar in patients with and without CAC.

The SLE+CAC group had a higher percentage of patients with CVR (83.3 vs. 42.7%, $p=0.008$) and a higher mean number of CVR (2 ± 1.21 vs. 0.90 ± 1.16 , $p=0.003$) than the SLE group. Indeed, the percentage of patients with menopause (33.3 vs. 10.9%, $p=0.036$), dyslipidemia (58.3 vs. 19.5%, $p=0.003$), arterial hypertension (66.6 vs. 26.82%, $p=0.006$) were higher in the CAC group compared to those without this complication. The frequency of smoking (33.3 vs. 18.3%, $p=0.226$), diabetes mellitus (0 vs. 7.32%, $p=0.333$) and renal insufficiency (8 vs. 7.32%, $p=0.900$) were alike in both groups (Table 2). Lupus patients with CAC had higher levels of total cholesterol (5.36 ± 1.12 vs. 4.07 ± 0.79 mmol/L, $p<0.0001$), LDL cholesterol (3.38 ± 0.92 vs. 2.14 ± 0.70 mmol/L, $p<0.0001$) and triglycerides (3.92 ± 2.77 vs. 2.55 ± 1.83 mmol/L, $p=0.026$) compared to the SLE group. No difference was observed for HDL levels (1.50 ± 0.44 vs. 1.43 ± 0.42 mmol/L, $p=0.591$).

BMD in the whole body was reduced in the SLE+CAC compared to the SLE group (0.974 ± 0.089 vs. 1.042 ± 0.083 g/cm², $p=0.013$), whereas a borderline decrease was also observed for femoral neck BMD (0.697 ± 0.099 vs. 0.761 ± 0.105 g/cm², $p=0.052$). No difference was found for lumbar spine (0.908 ± 0.107 vs. 0.932 ± 0.126 g/cm², $p=0.519$) (Table 3).

Multivariate logistic analysis using variables that were statistically significant in the univariate analysis (age, disease duration, SLICC, presence of CVR, bone mineral density of whole body) revealed that only disease duration (OR=1.175, CI=1.005-1.374, $p=0.042$) and whole body BMD (OR=0.330, CI=0.127-0.857, $p=0.023$) remained as independent risk factors for CAC (Table 4).

DISCUSSION

We have identified that disease duration and whole body BMD are independent predictors for premature coronary calcification in SLE.

The selection of female patients younger than 45 years old was defined as an essential aspect to evaluate premature atherosclerosis in this disease, since age is known to be a major contributory factor for this complication [15,36,37]. The age limit chosen was based on the significantly lower incidence rate of cardiovascular events in women ages <45 years [38]. In fact, the impact of this important confounding variable was difficult to determine in many previous studies of coronary calcification in SLE, since the representation of patients older than 40 years accounted for up to 70% of their cohort [4,39].

The importance of gender for the coronary risk factor profile has been documented in a large healthy asymptomatic cohort [40] and in lupus patients [4]. Consequently, the exclusion of male patients, who have significantly higher CAC scores at all age strata than the corresponding female age strata [41] was essential for the interpretation of our results.

The presence of coronary calcification is very uncommon in women < 50 years of age as detected by EBT-CAC screening [38,40]. The control group was not considered ethical in view of the fact that age- and gender- stratified CAC distribution in a large healthy population has been well defined [41] and of the high X-ray exposure of young healthy women required. The 13% frequency observed herein for lupus patients is therefore higher than the one expected for the age-related healthy population [4,41]. This finding is, however, lower than those reported by other studies in lupus populations [4,39] and is probably explained by differences regarding mean age [4,10,39,42,43] and male

inclusion [4,39,42]. The mean CAC score, although lower than the ones reported for other SLE populations [4,39], may represent a subgroup with increased risk for cardiovascular events, since scores greater than zero were reported to be associated with this complication, even in women classified as low Framingham scores [44].

Regarding traditional risk factors, we have confirmed previous studies that identified high levels of total cholesterol, LDL, and triglycerides as the main alterations in the SLE lipid profile [45,46]. The most frequent risk factors observed in our population by univariate analysis were age, arterial hypertension, menopause and dyslipoproteinemia, which is in accordance with other previous studies [8,11], but their significance did not remain in the multivariate evaluation of a younger age lupus population.

Among the disease-related factors, only disease duration was associated with CAC findings independent of age. In fact, the exclusion of older patients in the present study has provided a unique opportunity to better distinguish the impact of age from that of disease duration, whereas in previous reports a clear discrimination was not possible due to the well-known increase of CAC incidence with age [4,10,39,43]. On the other hand, we have failed to identify a specific lupus organ involvement associated with cardiovascular risk factors, although it is generally accepted that severe renal impairment and nephrotic syndrome contribute to the development of atherosclerosis [10,43]. Likewise, the well-known contribution of corticosteroids to the metabolic cardiovascular risks [11,47] did not seem to account for CAC findings in our patients.

Additionally, the relevant association between premature coronary artery calcification and low BMD observed herein suggests a common underlying

mechanism for these two conditions, most probably inflammation [16]. Consistent with this hypothesis, we have demonstrated that severe vascular calcification in Takayasu arteritis is inversely associated with bone mineral density [48], as also observed in a very small cohort of lupus patients [49].

Our results indicate that disease duration and low BMD are independent predictors for premature coronary calcification in young women with SLE. Thus, the benefit of therapeutic strategies to reverse mineral bone imbalances in the progression of vascular calcifications remains to be determined in prospective studies.

FUNDING

This work was supported by grants of Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico [305691/2006-6 to R.M.R.P., 305468/2006-5 to E.B.], Federico Foundation to E.B and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior to G.G.R and to J.B. L.

REFERENCES:

- 1 Uramoto KM, Michet CJ Jr, Thumboo J *et al.* Trends in the incidence and mortality of systemic lupus erythematosus, 1950-1992. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 46-50.
- 2 Esdaile JM, Abrahamowicz M, Grodzicky T *et al.* Traditional Framingham risk factors fail to fully account for accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2331-7.
- 3 Souza AW, Hatta FS, Miranda F, Sato EI. Atherosclerotic plaque in carotid arteries in systemic lupus erythematosus: frequency and associated risk factors. *Sao Paulo Med J* 2005; 123: 137-42.
- 4 Asanuma Y, Oeser A, Shintani AK *et al.* Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349:2407-15.
- 5 Rosner S, Ginzler EM, Diamonk HS *et al.* A multicenter study of outcome in systemic lupus erythematosus. II. Causes of death. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 612-17.
- 6 Urowitz MB, Gladman DD. Accelerated atheroma in lupus-background. *Lupus*. 2000; 9: 161-5.

7 Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE *et al.* Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham study. *Am J Epidemiol* 1997, 145: 408-15.

8 Bruce IN, Urowitz MB, Gladman DD, Ibanez D, Steiner G. Risk factors for coronary heart disease in women with systemic lupus erythematosus. The Toronto risk factor study. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3159-3167.

9 El-Magadmi M, Bodill H, Ahmad Y *et al.* Systemic lupus erythematosus: an independent risk factor for endothelial dysfunction in women. *Circulation* 2004; 110: 399-404.

10 Feldt JMV, Scalzi LV, Cucchiara AJ *et al.* Homocysteine levels and disease duration independently correlate with coronary artery calcification in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2220-7.

11 Manzi S, Selzer F, Sutton-Tyrrell K *et al.* Prevalence and risk factors of carotid plaque in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999;42: 51-60.

12 Manzi S. Systemic lupus erythematosus: a model for atherogenesis? *Rheumatology* 2000; 39:353-9.

13 Goodman WG, Goldin J, Kuizan BD *et al.* Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med* 2000; 342: 1478-83.

14 Ravera M, Paoletti E. Hypertension, dyslipidemia and cardiovascular risk in chronic renal disease. *Ital Heart J Suppl.* 2004, 5: 436-44.

15 Roman MJ, Shanker BA, Davis A *et al.* Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 2399-406.

16 Danilevicius CF, Lopes JB, Pereira RM. Bone metabolism and vascular calcification. *Braz J Med Biol Res* 2007;40:435-42.

17 Hofbauer LC, Brueck CC, Shanahan CM, Schoppet M, Dobnig H. Vascular calcification and osteoporosis- from clinical observation towards molecular understanding. *Osteoporos Int* 2007;18:251-9.

18 Tintut Y, Parhami F, Tsingotjidou A, Tetradis S, Territo M, Demer LL. 8-Isoprostaglandin E2 enhances receptor-activated NFkappa B ligand (RANKL)-dependent osteoclastic potential of marrow hematopoietic precursors via the cAMP pathway. *J Biol Chem* 2002;277:14221-6.

19 Min H, Morony S, Sarosi I *et al.* Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med* 2000;192:463-74.

20 Naves M, Rodríguez-García M, Díaz-López JB, Gómez-Alonso C, Cannata-Andía JB. Progression of vascular calcifications is associated with greater bone loss and increased bone fractures. *Osteoporos Int* 2008;19:1161-6.

21 Samelson EJ, Cupples LA, Broe KE, Hannan MT, O'Donnell CJ, Kiel DP. Vascular calcification in middle age and long-term risk of hip fracture: the Framingham Study. *J Bone Miner Res* 2007;22: 1449-54.

22 Hak AE, Pols HA, van Hemert AM, Hofman A, Witteman JC. Progression of aortic calcification is associated with metacarpal bone loss during menopause: a population-based longitudinal study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20: 1926-31.

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

24 Telles RW, Lanna CCD, Ferreira GA, Souza AJ, Navarro TP, Ribeiro AL. Carotid atherosclerotic alterations in systemic lupus erythematosus patients treated at a Brazilian university setting. *Lupus* 2008; 17: 105-13.

25 Nelson HD. Menopause. *Lancet* 2008; 371: 760-70.

26 Levey AS, Coresh J, Balk E *et al.* National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med* 2003; 139:137–147.

27 Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH, and the Committee on Prognosis Studies in SLE. Derivation of the SLEDAI: a disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum* 1992; 35:630-41

28 Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C *et al.* The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996; 39:363-9.

29 Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clin Chem* 1983; 29:1075-80.

30 Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem* 1982; 28:2077-80.

31 Warnick GR, Cheung NC, Albers JJ. Comparison of current methods for high density lipoprotein cholesterol quantification. *Clin Chem* 1979; 25: 596-604.

32 Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.

33 Tan EM, Peebles C. Quantification of antibodies to Sm antigen and nuclear ribonucleoprotein by hemagglutination. In: Rose NR, Friedman H, ed. *Manual of clinical immunology*. 2nd ed. Washington: Amer Soc Microbiol, 1980:866-70.

34 Gharavi AE, Harris EN, Asherson RA, Hughes GRV. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis* 1987; 46: 1-6.

35 Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M Jr, Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15: 827-32.

36 Selzer F, Sutton-Tyrrel K, Fitzgerald SG *et al*. Comparison of risk factors for vascular disease in the carotid artery and aorta in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 151-9.

37 Maturana MA, Irigoyen MC, Spritzer PM. Menopause, estrogens, and endothelial dysfunction: current concepts. *Clinics* 2007; 62: 77-86.

38 Wong ND, Budoff MJ, Pio J, Detrano RC. Coronary calcium and cardiovascular event risk: evaluation by age- and sex-specific quartiles. *Am Heart J* 2002; 143: 456-9.

39 Kiani AN, Magder L, Petri M. Coronary calcium in systemic lupus erythematosus is associated with traditional cardiovascular risk factors, but not with disease activity. *J Rheumatol* 2008; 35: 1-7.

40 Janowitz WR, Agatston AS, Kaplan G, Viamonte M. Differences in prevalence and extent of coronary artery calcium detected by ultrafast computed tomography in asymptomatic men and women. *Am J Cardiol* 1993; 72: 247-54.

41 Hoff JA, Chomka EV, Krainik AJ, Daviglius M, Rich S, Kondos GT. Age and gender distributions of coronary artery calcium detected by electron beam tomography in 35,246 adults. *Am J Cardiol* 2001; 87: 1335-9.

42 Asanuma YU, Chung CP, Oeser A *et al.* Increased concentration of proatherogenic inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to cardiovascular risk factors. *J Rheumatol* 2006; 33: 539-45.

43 Manger K, Kusus M, Forster C *et al.* Factors associated with coronary artery calcification in young female patients with SLE. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 846-50.

44 Lakoski SG, Greenland P, Wong ND *et al.* Coronary artery calcium scores and risk for cardiovascular events in women classified as "low risk" based on Framingham risk score: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). *Arch Intern Med* 2007; 167: 2437-42.

45 Borba EF, Bonfa E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease, activity, and anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1997; 6: 533-9.

46 Bruce IN, Urowitz MB, Gladman DD, Hallett DC. Natural history of hypercholesterolemia in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1999; 26: 2137-43.

47 Doria A, Shoenfeld Y, Wu R *et al.* Risk factors for subclinical atherosclerosis in a prospective cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 1071-7.

48 Bezerra MC, Calomeni GD, Caparbo VF, Gebrim ES, Rocha MS, Pereira RM. Low bone density and low serum levels of soluble RANK ligand are associated with severe arterial calcification in patients with Takayasu arteritis. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44:1503-6.

49 Ramsey-Goldman R, Manzi S. Association of osteoporosis and cardiovascular disease in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2338-41.

Table 1. SLE disease risk factors in SLE patients with and without coronary arterial calcification (CAC)

	SLE+CAC (n=12)	SLE (n=82)	P
Disease duration, years	16.33±5.09	12.46±4.78	0.011
ACR criteria, n	6.33±1.30	6.66±1.49	0.476
SLEDAI, n	1.33±1.76	3.05±3.66	0.115
SLICC, n	2.67±1.56	1.41±1.57	0.011
ORGAN INVOLVEMENT			
Articular, %	100	100	1.00
Mucocutaneous, %	100	97.6	0.584
Serositis, %	50	24.4	0.064
Hematological, %	50	58.5	0.576
Renal, %	58.3	53.7	0.761
Neurological, %	8.3	26.8	0.164
ANTIBODIES			
Anti-dsDNA, %	25	54.9	0.053
Anti-Sm, %	50	25.6	0.081
Anticardiolipin-IgG, %	25	43.9	0.215
Anticardiolipin-IgM, %	33.3	23.2	0.444
Lupus anticoagulant, %	33.3	17	0.244

Table 2. Cardiovascular risks (CVR) in SLE patients with and without coronary arterial calcification (CAC)

	SLE+CAC (n=12)	SLE (n=82)	P
CVR present, %	83.3	42.7	0.008
Menopause, %	33.3	10.9	0.036
Dyslipoproteinemia, %	58.3	19.5	0.003
Arterial Hypertension, %	66.6	26.82	0.006
Smoking, %	33.3	18.3	0.226
Diabetes mellitus, %	0	7.32	0.333
Chronic renal insufficiency, %	8	7.32	0.900

Table 3. Bone mineral density (BMD) in SLE patients with and without coronary arterial calcification (CAC)

BMD	SLE+CAC (n=12)	SLE (n=82)	P
L1-L4, g/cm ²	0.908±0.107	0.932±0.126	0.519
Femoral neck, g/cm ²	0.697±0.099	0.761±0.105	0.052
Whole body, g/cm ²	0.974±0.089	1.042±0.083	0.013

Table 4. Regression logistic analysis using coronary arterial calcification (CAC) as a dependent variable

	Z	P	OR	95% CI
Age	0.58	0.564	1.052	0.885-1.250
Disease duration	2.03	0.042	1.175	1.005-1.374
SLICC	0.73	0.468	1.175	0.759-1.821
CVR	1.70	0.090	5.801	0.759-44.30
Whole body BMD	-2.28	0.023	0.330	0.127-0.857

CVR: cardiovascular risks

BMD: Bone mineral density

Rheumatology key messages

- Coronary artery calcification occurs in young women with SLE.
- Disease duration and decreased BMD are independent predictors for premature coronary calcification in young women with SLE.
- The association between premature coronary calcification and low BMD in lupus suggests a common underlying mechanism.

8. REFERÊNCIAS

1 Uramoto KM, Michet CJ Jr, Thumboo J *et al.* Trends in the incidence and mortality of systemic lupus erythematosus, 1950-1992. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 46-50.

2 Esdaile JM, Abrahamowicz M, Grodzicky T *et al.* Traditional Framingham risk factors fail to fully account for accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2331-7.

3 Souza AW, Hatta FS, Miranda F, Sato EI. Atherosclerotic plaque in carotid arteries in systemic lupus erythematosus: frequency and associated risk factors. *Sao Paulo Med J* 2005; 123: 137-42.

4 Asanuma Y, Oeser A, Shintani AK *et al.* Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349:2407-15.

5 Rosner S, Ginzler EM, Diamonk HS *et al.* A multicenter study of outcome in systemic lupus erythematosus. II. Causes of death. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 612-17.

6 Urowitz MB, Gladman DD. Accelerated atheroma in lupus-background. *Lupus*. 2000; 9: 161-5.

7 Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE *et al.* Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham study. *Am J Epidemiol* 1997, 145: 408-15.

8 Bruce IN, Urowitz MB, Gladman DD, Ibanez D, Steiner G. Risk factors for coronary heart disease in women with systemic lupus erythematosus. The Toronto risk factor study. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3159-3167.

9 El-Magadmi M, Bodill H, Ahmad Y *et al.* Systemic lupus erythematosus: an independent risk factor for endothelial dysfunction in women. *Circulation* 2004; 110: 399-404.

10 Feldt JMV, Scalzi LV, Cucchiara AJ *et al.* Homocysteine levels and disease duration independently correlate with coronary artery calcification in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2220-7.

11 Manzi S, Selzer F, Sutton-Tyrrell K *et al.* Prevalence and risk factors of carotid plaque in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999;42: 51-60.

12 Manzi S. Systemic lupus erythematosus: a model for atherogenesis? *Rheumatology* 2000; 39:353-9.

13 Goodman WG, Goldin J, Kuizan BD *et al.* Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med* 2000; 342: 1478-83.

14 Ravera M, Paoletti E. Hypertension, dyslipidemia and cardiovascular risk in chronic renal disease. *Ital Heart J Suppl.* 2004, 5: 436-44.

15 Roman MJ, Shanker BA, Davis A *et al.* Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 2399-406.

16 Danilevicius CF, Lopes JB, Pereira RM. Bone metabolism and vascular calcification. *Braz J Med Biol Res* 2007;40:435-42.

17 Hofbauer LC, Brueck CC, Shanahan CM, Schoppet M, Dobnig H. Vascular calcification and osteoporosis- from clinical observation towards molecular understanding. *Osteoporos Int* 2007;18:251-9.

18 Tintut Y, Parhami F, Tsingotjidou A, Tetradis S, Territo M, Demer LL. 8-Isoprostaglandin E2 enhances receptor-activated NFkappa B ligand (RANKL)-dependent osteoclastic potential of marrow hematopoietic precursors via the cAMP pathway. *J Biol Chem* 2002;277:14221-6.

19 Min H, Morony S, Sarosi I *et al.* Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med* 2000;192:463-74.

20 Naves M, Rodríguez-García M, Díaz-López JB, Gómez-Alonso C, Cannata-Andía JB. Progression of vascular calcifications is associated with greater bone loss and increased bone fractures. *Osteoporos Int* 2008;19:1161-6.

21 Samelson EJ, Cupples LA, Broe KE, Hannan MT, O'Donnell CJ, Kiel DP. Vascular calcification in middle age and long-term risk of hip fracture: the Framingham Study. *J Bone Miner Res* 2007;22: 1449-54.

22 Hak AE, Pols HA, van Hemert AM, Hofman A, Witteman JC. Progression of aortic calcification is associated with metacarpal bone loss during menopause: a population-based longitudinal study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20: 1926-31.

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

24 Telles RW, Lanna CCD, Ferreira GA, Souza AJ, Navarro TP, Ribeiro AL. Carotid atherosclerotic alterations in systemic lupus erythematosus patients treated at a Brazilian university setting. *Lupus* 2008; 17: 105-13.

25 Nelson HD. Menopause. *Lancet* 2008; 371: 760-70.

26 Levey AS, Coresh J, Balk E *et al.* National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med* 2003; 139:137–147.

27 Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH, and the Committee on Prognosis Studies in SLE. Derivation of the SLEDAI: a disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum* 1992; 35:630-41

28 Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C *et al.* The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996; 39:363-9.

29 Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clin Chem* 1983; 29:1075-80.

30 Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem* 1982; 28:2077-80.

31 Warnick GR, Cheung NC, Albers JJ. Comparison of current methods for high density lipoprotein cholesterol quantification. *Clin Chem* 1979; 25: 596-604.

32 Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.

33 Tan EM, Peebles C. Quantification of antibodies to Sm antigen and nuclear ribonucleoprotein by hemagglutination. In: Rose NR, Friedman H, ed. *Manual of clinical immunology*. 2nd ed. Washington: Amer Soc Microbiol, 1980:866-70.

34 Gharavi AE, Harris EN, Asherson RA, Hughes GRV. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis* 1987; 46: 1-6.

35 Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M Jr, Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15: 827-32.

36 Selzer F, Sutton-Tyrrel K, Fitzgerald SG *et al*. Comparison of risk factors for vascular disease in the carotid artery and aorta in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 151-9.

37 Maturana MA, Irigoyen MC, Spritzer PM. Menopause, estrogens, and endothelial dysfunction: current concepts. *Clinics* 2007; 62: 77-86.

38 Wong ND, Budoff MJ, Pio J, Detrano RC. Coronary calcium and cardiovascular event risk: evaluation by age- and sex-specific quartiles. *Am Heart J* 2002; 143: 456-9.

39 Kiani AN, Magder L, Petri M. Coronary calcium in systemic lupus erythematosus is associated with traditional cardiovascular risk factors, but not with disease activity. *J Rheumatol* 2008; 35: 1-7.

40 Janowitz WR, Agatston AS, Kaplan G, Viamonte M. Differences in prevalence and extent of coronary artery calcium detected by ultrafast computed tomography in asymptomatic men and women. *Am J Cardiol* 1993; 72: 247-54.

41 Hoff JA, Chomka EV, Krainik AJ, Daviglius M, Rich S, Kondos GT. Age and gender distributions of coronary artery calcium detected by electron beam tomography in 35,246 adults. *Am J Cardiol* 2001; 87: 1335-9.

42 Asanuma YU, Chung CP, Oeser A *et al.* Increased concentration of proatherogenic inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to cardiovascular risk factors. *J Rheumatol* 2006; 33: 539-45.

43 Manger K, Kusus M, Forster C *et al.* Factors associated with coronary artery calcification in young female patients with SLE. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 846-50.

44 Lakoski SG, Greenland P, Wong ND *et al.* Coronary artery calcium scores and risk for cardiovascular events in women classified as "low risk" based on Framingham risk score: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). *Arch Intern Med* 2007; 167: 2437-42.

45 Borba EF, Bonfa E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease, activity, and anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1997; 6: 533-9.

46 Bruce IN, Urowitz MB, Gladman DD, Hallett DC. Natural history of hypercholesterolemia in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1999; 26: 2137-43.

47 Doria A, Shoenfeld Y, Wu R *et al.* Risk factors for subclinical atherosclerosis in a prospective cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 1071-7.

48 Bezerra MC, Calomeni GD, Caparbo VF, Gebrim ES, Rocha MS, Pereira RM. Low bone density and low serum levels of soluble RANK ligand are associated with severe arterial calcification in patients with Takayasu arteritis. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44:1503-6.

49 Ramsey-Goldman R, Manzi S. Association of osteoporosis and cardiovascular disease in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2338-41.