

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

Gabriella Stefenoni Krüger

**Osteoimunologia na Artrite Reumatóide: comparação entre terapias convencionais e biológicos.**

Uberaba, 2023

GABRIELLA STEFENONI KRÜGER

**Osteoimunologia na Artrite Reumatóide: comparação entre terapias convencionais e biológicos.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração Imunologia Básica e Aplicada, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Márcia Antoniazi Michelin.

Uberaba, 2023

**Catálogo na fonte:**  
**Biblioteca da Universidade Federal do Triângulo Mineiro**

K95o Krüger, Gabriella Stefenoni  
Osteoimunologia na artrite reumatóide: comparação entre terapias  
convencionais e biológicos / Gabriella Stefenoni Krüger. – 2023.  
78 f.: graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) -- Universidade Federal  
do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2023  
Orientadora: Profa. Dra. Márcia Antoniazi Michelin

1. Artrite reumatóide. 2. Osteoporose. 3. Citocinas. 4. Antirreumáticos.  
5. Inibidores do fator de necrose tumoral. I. Michelin, Márcia Antoniazi.  
II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 616.72-002.77

GABRIELLA STEFENONI KRÜGER

Osteoimunologia na Artrite Reumatóide: comparação entre terapias convencionais e biológicos.

Prévia da dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração Imunologia Básica e Aplicada, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Márcia Antoniazi Michelin.

Uberaba, 25 de janeiro de 2023.

Banca Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Adriana Maria Kakehasi  
Universidade Federal de Minas Gerais

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria de Fátima Borges  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Márcia Antoniazi Michelin  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus pela nossa existência, aos meus familiares pela compreensão e imenso amor, aos mestres pelos ensinamentos, aos colegas de trabalho pela cooperação e por fim aos pacientes pela constante motivação.

## RESUMO

A artrite reumatóide é uma doença imunomediada que afeta as articulações periféricas e é caracterizada por inflamação sistêmica crônica com perda sistêmica da densidade mineral óssea. A suscetibilidade à osteoporose ocorre devido à inflamação sistêmica, bem como ao uso crônico de corticosteroides. Os medicamentos antirreumáticos modificadores da doença (MMCDs) biológicos e específicos de alvo agem efetivamente bloqueando a inflamação sistêmica. Nossa hipótese é que os pacientes que recebem MMCDs biológicos e alvo-específicos têm maior densidade mineral óssea, exibem níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias mais baixos e requerem doses mais baixas de corticosteroides do que aqueles que recebem terapia convencional. Para testar essa hipótese, realizamos um ensaio clínico quantitativo, descritivo, observacional, transversal e prospectivo, coletando dados de pacientes elegíveis. Os participantes foram divididos em três grupos de acordo com a classe de MMCDs (MMCDs sintéticos convencionais, biológicos e alvo-específicos). Os principais mediadores inflamatórios da osteoporose secundária à artrite reumatóide (fator de necrose tumoral- $\alpha$ , interleucina-6), escore de atividade da doença em 28 articulações, calculado usando proteína C-reativa, densidade mineral óssea, biomarcador de remodelação óssea telopeptídeo C-terminal e glicocorticoide dose foram avaliadas nos três grupos. A análise de variância e o coeficiente de correlação produto-momento de Pearson foram utilizados para comparar os resultados entre os grupos. Número de Registro do Ensaio - Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE): 46069821.4.0000.8667, 15/07/2021. Os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 não apresentaram correlação significativa com nenhuma variável, como DAS28-CRP, CTX e densidade mineral óssea da coluna lombar, fêmur total e colo femoral. A dose de prednisona foi significativamente correlacionada positivamente com CTX e DAS28-CRP. Entre os pacientes com artrite reumatóide, o tratamento com qualquer medicamento antirreumático modificador da doença, atingindo baixa atividade da doença ou remissão, diminui os níveis de citocinas circulantes e baixa reabsorção óssea.

**Palavras-chave:** Artrite Reumatóide. Osteoporose. Citocinas. Antirreumáticos. Inibidores do Fator de Necrose Tumoral.

## ABSTRACT

Rheumatoid arthritis is an immune-mediated disease that affects the peripheral joints and is characterized by chronic systemic inflammation with systemic bone mineral density loss. Susceptibility to osteoporosis occurs due to systemic inflammation, as well as chronic corticosteroid use. The biologic and target-specific disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) act effectively blocking systemic inflammation. We hypothesized that patients receiving biologic and target-specific DMARDs have higher bone mineral density, exhibit lower serum pro-inflammatory cytokine levels, and require lower corticosteroid doses than those receiving conventional therapy. To test this hypothesis, we conducted a quantitative, descriptive, observational, cross-sectional and prospective clinical trial by collecting data from eligible patients. The participants were divided into three groups according to DMARD class (conventional synthetic, biologic, and target-specific DMARDs). The main inflammatory mediators of osteoporosis secondary to rheumatoid arthritis (tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-6), Disease Activity Score in 28 Joints, calculated using C-reactive protein, bone mineral density, bone turnover biomarker C-terminal telopeptide, and glucocorticoid dose were assessed in the three groups. Analysis of variance and Pearson product-moment correlation coefficient were used to compare the results among groups. Trial Registration Number - Certificate of Presentation for Ethical Consideration (CAAE): 46069821.4.0000.8667, 07/15/2021. TNF- $\alpha$  and IL-6 levels did not show significant correlation with any variable, such as DAS28-CRP, CTX, and bone mineral density of the lumbar spine, total femur, and femoral neck. The prednisone dose was significantly positively correlated with CTX and DAS28-CRP. Among patients with Rheumatoid arthritis treatment with any disease-modifying antirheumatic drugs achieving low disease activity or remission decrease circulating cytokine levels and low bone resorption.

**Keywords** Rheumatoid arthritis, Osteoporosis, Cytokines, Antirheumatic agents, Tumor necrosis factor inhibitors

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação esquemática do ciclo vicioso – Inflamação e perda óssea .....	14
Figura 2 – Esquema da fisiopatogenia da osteopenia na Artrite Reumatóide .....	17
Figura 3 - Algoritmo de decisão terapêutica da artrite reumatoide .....	19
Figura 4- Grupos de pacientes com Artrite Reumatóide e sua separação conforme terapêutica para doença de base .....	25
Figura 5- Distribuição por idade entre os indivíduos estudados .....	28
Figura 6- Presença de Auto Anticorpos para Artrite Reumatóide .....	30
Figura 7 – Relação do uso de Prednisona na amostra .....	30
Figura 8 – Porcentagem de pacientes com hiperparatireoidismo secundário .....	31
Figura 9 – Resultado do cálculo do risco clínico para fraturas por fragilidade .....	32
Figura 10 – Tipos de tratamento profilático para osteoporose secundária .....	32
Figura 11 - Comparação da variável C-telopeptídeo entre os grupos terapêuticos .....	33
Figura 12 - Comparação entre os grupos analisados para a variável densidade mineral óssea da coluna lombar .....	34
Figura 13 - Comparação entre os grupos analisados para a variável densidade mineral óssea do colo femoral .....	35
Figura 14 - Comparação entre os grupos analisados para a variável densidade mineral óssea do fêmur total .....	35
Figura 15 – Dosagem das citocinas séricas em cada paciente analisado .....	36
Figura 16– Comparação dos níveis de TNF entre os diferentes grupos terapêuticos .....	37
Figura 17 - Comparação dos níveis de IL-6 entre os diferentes grupos terapêuticos .....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características clínicas e sociodemográficas dos participantes com AR .....	29
Tabela 2 - Descrição da variável densidade mineral óssea entre os grupos terapêuticos.....	34
Tabela 3 – Correlação entre as variáveis de interesse no grupo DMARD biológico .....	38
Tabela 4 – Correlação entre as variáveis de interesse .....	39

## LISTA DE SIGLAS

ACR – *American College of Rheumatology*

AINE - Antiinflamatório não hormonal

Anti-CCP - autoanticorpos contra peptídeo citrulinado cíclico

AR – Artrite Reumatóide

BMD – Densidade Mineral Óssea

CD20 de Linfócitos B - *cluster of differentiation* 20, receptor transmembrana célula B

CDAI - *Clinical Disease Activity Index*

CTLA4 (análogo) - inibindo a coestimulação do linfócito T

CTX - telopeptídeo C-terminal

DAS-28 - *Disease activity score*

DMO ou BMD - Densidade Mineral Óssea

EULAR - *European Alliance of Associations for Rheumatology*

FR – Fator Reumatóide

M-CSF - Fator estimulador de colônia de macrófagos

FRAX - *Fracture Risk Assessment Tool*

IL - Interleucina

IMC - Índice de massa corporal

LSN - Limite superior da normalidade

MMCD ou DMARD - droga ou medicação modificadora do curso da doença

MMCDae - medicação modificadora do curso da doença alvo específico

MMCDbio - medicação modificadora do curso da doença biológica

MMCDsc - medicação modificadora do curso da doença sintético convencional

MTX - metotrexate

NF-κB - Fator nuclear kappa B

NOGG - *UK National Osteoporosis Guideline Group*

OPG - osteoprotegerina

PCR – Proteína C reativa

PTH - Paratormônio

RANKL - Receptores do fator nuclear kappa-B ligante

TNF – Fator de Necrose Tumoral

VHS – Velocidade de hemossedimentação

## SUMÁRIO

1 Introdução .....	12
2 Justificativa .....	21
3 Hipótese .....	22
4 Objetivos .....	23
5 Métodos .....	24
6 Resultados.....	28
7 Discussão .....	40
8 Conclusão .....	44
Referências .....	46
Anexo A PARECER CONSUBSTANCIADO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	50
Anexo B TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	58
Anexo C CÁLCULO DA INGESTÃO DE CÁLCIO DIÁRIO .....	61
Anexo D INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS .....	64
Anexo E SUBMISSÃO DO ARTIGO .....	66
Anexo F ARTIGO .....	68

## 1 INTRODUÇÃO

Osteoporose é uma doença caracterizada pela redução na densidade mineral óssea, com afinamento e descontinuação das trabéculas ósseas e a trabecularização do osso cortical (mudança na microarquitetura) (RADOMINSKI et al., 2017a) predispondo à fragilidade óssea e risco de fraturas (PINHEIRO et al., 2010; ARAÚJO; OLIVEIRA; BRACCO, 2005; GEUSENS; LEMS, 2011; BULTINK *et al.*, 2012). Nas últimas décadas foi estabelecida a relação entre as células do tecido ósseo e as doenças inflamatórias (BULTINK et al., 2012), sendo denominada **osteimunologia** o campo de estudo que identifica essa relação (TAKAYANAGI, 2009; LEE et al., 2008; GEUSENS; LEMS, 2011; BULTINK *et al.*, 2012; SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018). As descrições das relações entre o sistema imunológico e tecido ósseo têm sido aos poucos revelada por meio de pesquisas *in vitro* e *in vivo*, revelando forte interação desde a origem celular, regulação do remodelamento ósseo por células do sistema hematopoiético e imunológico (citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento) e até mesmo a função imunológica das células ósseas (p.ex. produção de citocinas pró-inflamatórias pelo osteoclasto em resposta a estímulos pelos receptores *toll-like*) (SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018; LEE et al., 2008).

A artrite reumatoide (AR), doença imunomediada que afeta primariamente as articulações periféricas, é caracterizada pela infiltração de células inflamatórias na sinóvia como macrófagos sinoviais, linfócitos Th17 e sinoviócitos semelhante a fibroblastos que ativam a osteoclastogênese por meio da via do ativador ligante do receptor do fator nuclear kappa-B (RANK-RANKL- osteoprotegerina) (TAKAYANAGI, 2009; TAKAYANAGI, 2021; LEE et al., 2008), além da inflamação sistêmica crônica com altos níveis de citocinas pró-inflamatórias circulantes como Fator de Necrose Tumoral e Interleucina 6. Todos esses fatores estimulam a osteoclastogênese e como resultado da ativação osteoclástica ocorre a destruição do osso periarticular, clinicamente vistos às radiografias como os cistos e erosões ósseas, além de reduzir a densidade mineral óssea justa-articular e sistêmica (TAKAYANAGI, 2009; TAKAYANAGI, 2021; LEE et al., 2008; GEUSENS; LEMS, 2011; BULTINK *et al.*, 2012; SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018).

O perfil populacional brasileiro apresenta notável envelhecimento nas últimas décadas com uma projeção de que em 2050 37% da população terá mais de 50 anos (JOSÉ ZANCHETTA, 2012), sendo a osteoporose a principal causa de fraturas nessa mesma faixa

etária (RADOMINSKI et al., 2017a). O impacto das fraturas por fragilidade óssea, secundárias à osteoporose, pode ser demonstrado em números: em torno de 50% das mulheres e 20% dos homens sofrerão algum tipo de fratura por fragilidade óssea após os 50 anos (BRASIL. Ministério da Saúde, 2014), e o custo do tratamento cirúrgico para correção de fratura femoral gira em torno de R\$ 24.000,00 (ARAÚJO; OLIVEIRA; BRACCO, 2005). Os autores citados relatam ainda que entre os pacientes com fratura femoral, somente 1/4 recebem tratamento para osteoporose no pós-operatório. As fraturas ainda causam dor, deformidades, incapacidades físicas com consequente redução da qualidade de vida e aumento na morbi-mortalidade (PINHEIRO et al., 2010; ARAÚJO; OLIVEIRA; BRACCO, 2005; BRASIL. Ministério da Saúde, 2014; RADOMINSKI et al., 2017a). Estima-se que mais da metade daqueles que fraturam o fêmur se tornam incapazes de retomar uma vida independente, necessitando até mesmo institucionalização (RADOMINSKI et al., 2017a). A mortalidade após fratura de fêmur foi estimada em 23,6% nos 3 meses subsequentes à fratura (BRASIL. Ministério da Saúde, 2014).

A fratura por fragilidade óssea, ou de baixo impacto, tem como principais sítios as vértebras, o rádio distal e o fêmur proximal (BRASIL. Ministério da Saúde, 2014; RADOMINSKI et al., 2017a), sendo possível a prevenção primária por meio do rastreio via densitometria óssea e identificação precoce dos fatores clínicos de risco associados à baixa massa óssea (PINHEIRO et al., 2010; BRASIL. Ministério da Saúde, 2014; RADOMINSKI et al., 2017a). Os fatores de risco são diversos e para uma avaliação ponderada individual foi desenvolvida a ferramenta FRAX (*Fracture Risk Assessment Tool*) (SOUSA et al., 2018) com a correção via NOGG (*UK National Osteoporosis Guideline Group*) (RADOMINSKI et al., 2017a). O uso das calculadoras permite a avaliação do risco de fratura osteoporótica maior (fêmur, vértebra, úmero ou rádio distal) ou de quadril (fêmur) nos próximos 10 anos, guiando a propedêutica ou quanto à necessidade de intervenção farmacológica (BUKSMAN et al., 2014; RADOMINSKI et al., 2017a).

Pacientes com artrite reumatoide apresentam maior risco de evoluir com fraturas por fragilidade óssea em relação à população geral (BELLAN; PIRISI; SAINAGHI, 2015; ZERBINI et al., 2015), sendo, assim, um importante desfecho clínico para a doença. Com a instituição da estratégia terapêutica *treat-to-target* para a otimização do tratamento da artrite reumatóide (SMOLEN, 2016) de forma global por reumatologistas objetivando a baixa atividade de doença e, caso possível a remissão clínica da artrite reumatóide, percebeu-se a progressiva estabilização ou até mesmo ganho de massa óssea nesses pacientes (BELLAN;

PIRISI; SAINAGHI, 2015; ZERBINI et al., 2015). Supõe-se que aqueles em uso de DMARD biológico apresentem densidade mineral óssea superior àqueles em terapia sintética convencional, além de apresentarem menores níveis séricos de citocinas pró inflamatórias e menores doses cumulativas de corticóides. Nesse ensejo o presente estudo propôs a avaliação do tecido ósseo (por meio de um marcador de reabsorção óssea e da densidade mineral óssea) nos pacientes com diagnóstico de artrite reumatóide, com intuito de determinar se efetivamente existem diferenças entre o perfil ósseo dadas as diferentes terapêuticas atuais da doença.

Figura 1 – Representação esquemática do ciclo vicioso – Inflamação e perda óssea



Fonte: da autora.

### 1.1 Osteoporose - conceitos básicos

Osteoporose é uma doença caracterizada pela redução na densidade mineral óssea, com afinamento e descontinuação das trabéculas ósseas e a trabecularização do osso cortical (mudança na microarquitetura) (RADOMINSKI et al., 2017a) predispondo à fragilidade óssea e risco de fraturas (PINHEIRO et al., 2010; GEUSENS; LEMS, 2011). A densitometria óssea, exame que avalia a densidade mineral óssea (DMO), mas não sua microarquitetura, classifica a densidade conforme o desvio padrão do Z (comparação com pessoas da mesma idade) ou T (comparação com pessoas jovens no pico de massa óssea)

escore, conforme a faixa etária do paciente a ser avaliado (RADOMINSKI et al., 2017a). Osteoporose é definida quando o T-escore for menor ou igual a -2,5 desvios-padrão na coluna lombar, fêmur total, colo femoral ou rádio 33% (RADOMINSKI et al., 2017a; GEUSENS; LEMS, 2011). Osteopenia é definida como T-escore -1,0 a -2,5 desvios-padrão. Existe, então um intervalo entre DMO caracterizada como normal e a patológica, sendo o ponto de corte o T-escore -2,5 desvios-padrão. Sabe-se que nesse intervalo (DMO normal e osteopenia) existe a possibilidade de ocorrerem fraturas por fragilidade óssea (RADOMINSKI et al., 2017a), assim é orientado a realização de avaliação clínica global do paciente, para investigação de fatores de risco ou mesmo de causas secundárias de osteoporose.

O estudo BRAZOS (PINHEIRO et al., 2010) caracterizou os principais fatores de risco para fratura na população brasileira como idade avançada, sedentarismo, tabagismo atual, piora de qualidade de vida, menopausa precoce, alto consumo de fósforo, diabetes melito, quedas, uso crônico de benzodiazepínicos e história familiar de fraturas de fêmur em parentes de primeiro grau. Outros fatores clássicos são: artrite reumatoide, uso de corticoides cronicamente (dose equivalente prednisona 7,5mg/dia por mais de 3 meses) e etilismo (RADOMINSKI et al., 2017a; BRASIL. Ministério da Saúde, 2014; BULTINK et al., 2012). A osteoporose pode ainda ser causada por outras morbidades como doenças gastrointestinais (doença inflamatória intestinal, doença celíaca, síndromes de má absorção), endocrinopatias (hiperparatireoidismo primário, tireotoxicose, síndrome de Cushing, hipogonadismo e diabetes melito), doenças pulmonares crônicas, etc (COMPSTON et al., 2017; BRASIL. Ministério da Saúde, 2014; RADOMINSKI et al., 2017b).

Então criou-se a calculadora FRAX com sua consequente correção NOGG (COMPSTON et al., 2017) na tentativa de organizar e quantificar o risco de fraturas em pacientes sem tratamento com mais de 50 anos, além de classificar em quais pacientes devemos solicitar a densitometria óssea ou já iniciar o tratamento. A calculadora disponível para a população brasileira na página da Associação Brasileira de Avaliação da Saúde Óssea e Osteo metabolismo (ZERBINI et al., 2015).

A compreensão da fisiopatogenia da osteoporose é de suma importância para sua devida avaliação e correta instituição de medidas terapêuticas para prevenção primária ou secundária. De forma resumida podemos descrever o remodelamento ósseo como equilíbrio dinâmico que é vital ao bom funcionamento do tecido ósseo, sendo orquestrado pelo osteócito que após receber estímulos físicos ou químicos induz à ação acoplada do osteoclasto (absorção) e do osteoblasto (produção) permitindo assim, uma manutenção constante do osso

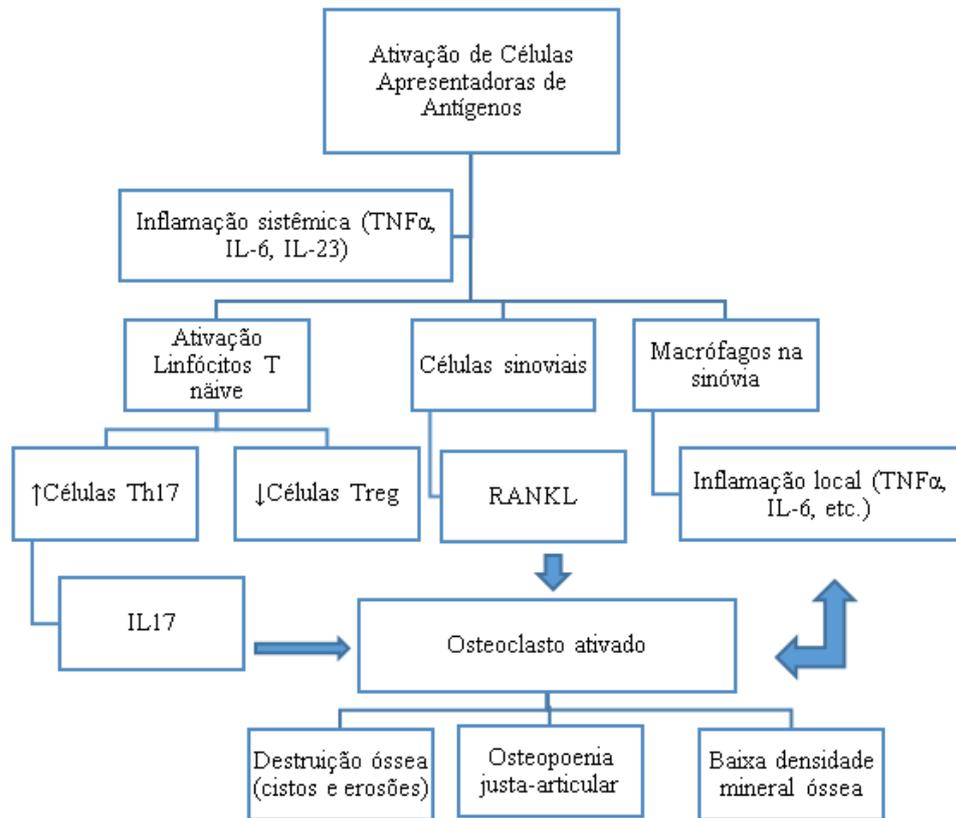
(SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018). Diversos são os sinais para o remodelamento ósseo, como por exemplo, microfraturas, níveis hormonais (estrogênio, paratormônio - PTH) (SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018) ou até mesmo a força de tração muscular sobre o osso (GEUSENS; LEMS, 2011). Osteoporose ocorre, então, quando há um desacoplamento funcional entre osteoclasto e osteoblasto, favorecendo a atuação do osteoclasto (reabsorção óssea).

O primeiro passo no remodelamento ósseo é a fase de ativação do osteócito, o que induz à apoptose com redução de níveis de fator de crescimento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) permitindo o aumento exponencial da osteoclastogênese (SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018). A osteoclastogênese é mediada por diversos fatores, mas principalmente pela estimulação via ativador de receptores do fator nuclear kappa-B ligante (RANKL) pertencente à família do TNF (GINALDI et al., 2015), o qual é responsável pela diferenciação e proliferação em células multinucleadas que possuem a função de reabsorção óssea (SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018; GEUSENS; LEMS, 2011; TAKAYANAGI, 2009), além da sobrevivência dos osteoclastos multinucleados com manutenção de sua ativação (LEE et al., 2008). O RANKL é produzido fisiologicamente por osteócitos, osteoblastos e células estromais, podendo também ser liberado patologicamente por células sinoviais e linfócitos T ativados no contexto de artrite reumatóide (TAKAYANAGI, 2009); relevante também é a capacidade das citocinas pró-inflamatórias (como IL-6, IL-1, IL-17 e TNF $\alpha$ ) induzirem a expressão de RANKL de fibroblastos sinoviais e osteoblastos (TAKAYANAGI, 2009; GEUSENS; LEMS, 2011). Na presença do fator estimulador de colônia de macrófagos (M-CSF) ocorre a ligação do RANK-RANKL (GINALDI et al., 2015) com ativação de fatores de transcrição como PU.1, NF- $\kappa$ B, c-Fos, NFATc1 e sinalização molecular (MAPK, c-Src, PI3K, AKT) (LEE et al., 2008). Para o controle local o osteoblasto também produz outra proteína ligante “isca” (*decoy*) a osteoprotegerina (OPG), permitindo a regulação da atividade osteoclástica (TAKAYANAGI, 2009). O TNF $\alpha$  também pode induzir ao osteócito a produzir esclerostina e Dkk-1, inibidores da via Wnt/ $\beta$  catenina, fundamentais para a osteoblastogênese (BELLAN; PIRISI; SAINAGHI, 2015; SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018).

Osteoblastos produzem a matriz óssea e com a calcificação (deposição de hidroxiapatita no osteóide) e sob influência da fosfatase alcalina se transformam em osteócito (SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018). Assim, a intrincada relação entre o osso e o sistema imunológico vem sendo elucidada, qualificando os papéis de células e mediadores químicos

pró e antirreabsorção óssea, denominando-se “imunoporose” (SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018).

Figura 2 – Esquema da fisiopatogenia da osteopenia na Artrite Reumatóide



Fonte: adaptado de SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018.

Legenda: TNF $\alpha$ : fator de necrose tumoral  $\alpha$ ; IL – interleucina; IL-6: interleucina 6; IL-23: interleucina 23; IL-17: interleucina 17; Células Th17: Linfócitos T CD4<sup>+</sup> helper 17; Células Treg: Linfócitos T CD4<sup>+</sup> regulatórios.

## 1.2 Artrite Reumatoide

A Artrite Reumatoide é uma doença autoimune inflamatória que afeta primariamente as articulações periféricas, caracterizada pela infiltração de células inflamatórias na sinóvia (LIU et al., 2017), inflamação sistêmica crônica com destruição da cartilagem articular e do osso periarticular, além de afetar a densidade mineral óssea local (articular) e sistêmica (GEUSENS; LEMS, 2011; TAKAYANAGI, 2009; BULTINK et al., 2012). Sua prevalência total é de 0,5 -1% da população, preferencialmente acometendo indivíduos acima dos 30

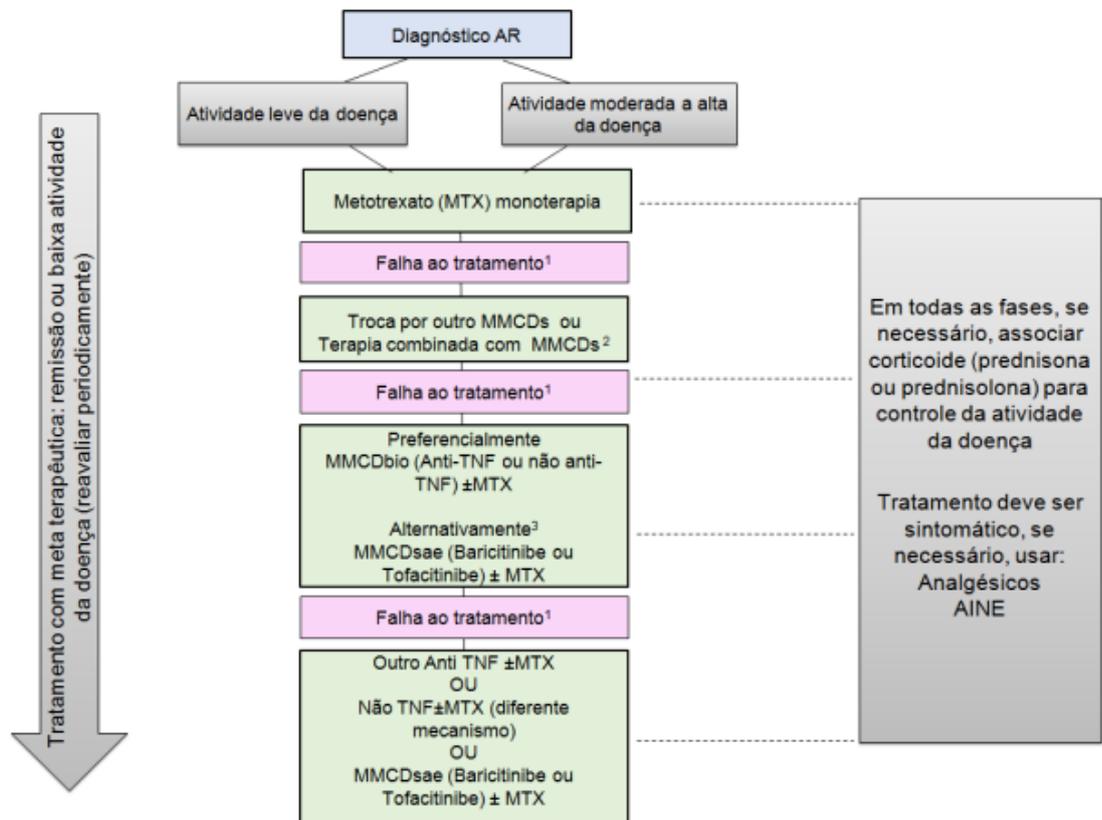
anos e no sexo feminino (MOTA; KAKEHASI; GOMIDES, 2018). Como mecanismo patogênico inicial ocorre a hiperreatividade das células apresentadoras de antígeno, com liberação precoce e exacerbada de citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-17, IL-23, entre outros (LEE et al., 2008; TAKAYANAGI, 2009; GEUSENS; LEMS, 2011; BULTINK et al., 2012; SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018; LIU et al., 2017).

Nas últimas décadas o conhecimento mais aprimorado dos mecanismos moleculares de comunicação celular e suas desregulações na artrite reumatóide, permitiram o desenvolvimento de diversas novas classes farmacológicas (ZERBINI *et al.*, 2017) que atuam bloqueando citocinas (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6) e/ou seus receptores (membrana ou solúveis), inibindo a coestimulação do linfócito T (análogo CTLA4), inibindo o CD20 de Linfócitos B e inibição de alvos específicos como a via de sinalização JAK-STAT (MOTA; KAKEHASI; GOMIDES, 2018). Tradicionalmente as medicações que atuam nas doenças reumáticas e que impedem sua progressão (p.ex.: na artrite reumatóide inibem o aparecimento de novos cistos/erosões ósseas subcondral, rarefação de osso justarticulares, deformidades, etc) são denominados de drogas modificadoras de doenças reumáticas (DMARD), sendo os convencionais compostos por metotrexate, leflunomida, sulfassalazina e hidroxicloroquina (MOTA; KAKEHASI; GOMIDES, 2018; TAKAYANAGI, 2009). O arsenal terapêutico farmacológico é vasto e, na prática diária, é implementado de forma mais individual, porém respeitando as orientações das sociedades da referida especialidade (MOTA; KAKEHASI; GOMIDES, 2018) e as normas do governo brasileiro. O objetivo da terapêutica é remissão da dor e da inflamação articular (MEDEIROS; OLIVEIRA; CERQUEIRA, 2015).

Na avaliação clínica do paciente com AR deve-se evitar a subjetividade optando por realizar os índices compostos de avaliação, como, por exemplo, *Disease activity score* (DAS-28) e *Clinical Disease Activity Index* (CDAI) (MEDEIROS; OLIVEIRA; CERQUEIRA, 2015) que utilizam o exame físico (número de articulações dolorosas e edemaciadas), a avaliação global do paciente sobre a doença/dor e um marcador sérico inflamatório (proteína C reativa ou velocidade de hemossedimentação). Esses índices organizam a reavaliação e a condução do paciente, conforme fluxograma terapêutico proposto pela Sociedade Brasileira de Reumatologia e amplamente usados na prática clínica diária nos sistemas de saúde pública e privadas (BRASIL, 2020; MOTA; KAKEHASI; GOMIDES, 2018). O alvo terapêutico a ser atingido como meta é a remissão clínica (*treat-to-target*) devendo ser obtido com a otimização das drogas modificadoras de doenças reumáticas e não às custas de corticoterapia (MOTA; KAKEHASI; GOMIDES, 2018). O

objetivo final a ser atingido é evitar o dano articular precoce como osteopenia justarticular, cistos e erosões ósseas (ZERBINI et al., 2017), manutenção do pannus sinovial principalmente visualizado à ultrassonografia e inferido pelo exame físico articular e o dano tardio (dor crônica, deformidades, anquilose articular, incapacidades, redução de massa óssea sistêmica, risco cardiovascular, etc.).

Figura 3 - Algoritmo de decisão terapêutica da artrite reumatoide



Fonte: BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020

Legenda: MTX: metotrexate; MMCD: droga ou medicação modificadora do curso da doença; MMCDbio: medicação modificadora do curso da doença biológica; Anti-TNF: bloqueia receptor ou a citocina Fator de Necrose Tumoral; MMCDsae: droga ou medicação modificadora do curso da doença alvo-específico; Não TNF: anticorpos contra interleucina 6, antígeno de linfócito B CD20, inibidores da coestimulação linfócito T; AINE: antiinflamatório não hormonal.

O impacto da atividade inflamatória crônica com hiperativação do osteoclasto e a decorrente reabsorção óssea pode ser avaliada em três sítios distintos: rarefação óssea justarticular e aparecimento de cistos e erosões ósseas nas articulações sinoviais acometidas,

além da perda de massa óssea global osteoporose (ZERBINI et al., 2015; BELLAN; PIRISI; SAINAGHI, 2015; TAKAYANAGI, 2009; GEUSENS; LEMS, 2011; LEE et al., 2008). Assim, a AR é um fator de risco isolado para osteoporose (BELLAN; PIRISI; SAINAGHI, 2015; TAKAYANAGI, 2009; GEUSENS; LEMS, 2011; LEE et al., 2008) tanto pela ativação de células imunes com a produção de citocinas e quimiocinas próinflamatórias, quanto pelo uso crônico de corticoterapia, favorecendo à osteoporose induzida pelo glucocorticóide (BELLAN; PIRISI; SAINAGHI, 2015).

### 1.3 Drogas modificadoras de doenças reumáticas biológicas e metabolismo ósseo

Com a instituição da estratégia *treat-to-target* (SMOLEN, 2016) no tratamento da AR objetivando-se a remissão clínica, percebeu-se a progressiva estabilização ou até mesmo ganho de massa óssea nesses pacientes (TAKAYANAGI, 2009; BULTINK et al., 2012; GULYÁS et al., 2020; VIS et al., 2006; CHEN et al., 2020). Estudos demonstram que a otimização terapêutica reduz tanto a inflamação sistêmica quanto a necessidade de uso de corticoterapia de resgate (TAKAYANAGI, 2009; GEUSENS; LEMS, 2011). Uma recente análise realizada por Chen e colaboradores (2020) após avaliar 388 participantes por 3 anos, utilizando-se a correspondência de propensão entre os grupos com MMCD sintéticos convencionais a MMCD biológicos evidenciou que aqueles em uso de terapia biológica obtiveram a manutenção de massa óssea global enquanto os de terapia convencional evoluíram com redução. Sugeriu-se, assim, a possibilidade de efeitos protetores sobre o osso das terapias biológicas, em especial os anti-TNF $\alpha$  (ZERBINI et al., 2017; GULYÁS et al., 2020; VIS et al., 2006).

Assim, a proposta deste estudo foi a avaliação óssea global (via densidade mineral óssea) em pacientes com diagnóstico de artrite reumatóide, com intuito de determinar se efetivamente existem diferenças entre o perfil ósseo dadas as diferentes terapêuticas atuais da doença. Estudos prévios sugerem que usuários de MMCD biológico apresentam densidade mineral óssea superior àqueles em terapia sintética convencional, além de apresentarem menores níveis séricos de citocinas próinflamatórias e menores doses cumulativas de corticóides.

## 2 JUSTIFICATIVA

A prevenção primária da fratura por fragilidade óssea torna-se essencial no contexto de envelhecimento populacional, não somente pelo impacto econômico na saúde público-privada mas também para evitar seus desfechos negativos e devendo ser considerado um problema de saúde pública. A redução na inflamação sistêmica obtida pelo tratamento da AR, permitiria a redução na ativação direta e indireta do osteoclasto, ocorrendo principalmente ao se atingir o alvo terapêutico (remissão clínica). A melhor compreensão do impacto da terapia modificadora da doença reumática no remodelamento ósseo permitiria uma expansão do critério “alvo terapêutico”, o que poderia englobar não só as métricas habituais (DAS-28, CDAI) mas também a avaliação do remodelamento ósseo objetivando a redução na incidência da osteoporose e sua principal complicação, a fratura.

### **3 HIPÓTESE**

Supõe-se que pacientes em uso de drogas modificadoras de doenças reumáticas tipo biológico apresentem densidade mineral óssea superior àqueles em terapia sintética convencional, além de apresentarem menores níveis séricos de citocinas próinflamatórias e menores doses cumulativas de corticóides.

## 4 OBJETIVOS

### Geral

- i. Avaliar o perfil ósseo global (ativação osteoclástica e a densidade mineral óssea) e os níveis de TNF e IL-6 séricas em pessoas com artrite reumatoide que usam MMCD biológico, sintético e alvo específico.

### Específicos

- ii. Verificar o efeito da dose cumulativa de corticóides nos grupos estudados e sua possível interferência na osteoporose;
- iii. Descrever as características sociodemográficas e epidemiológicas dos participantes.

## 5 MÉTODOS

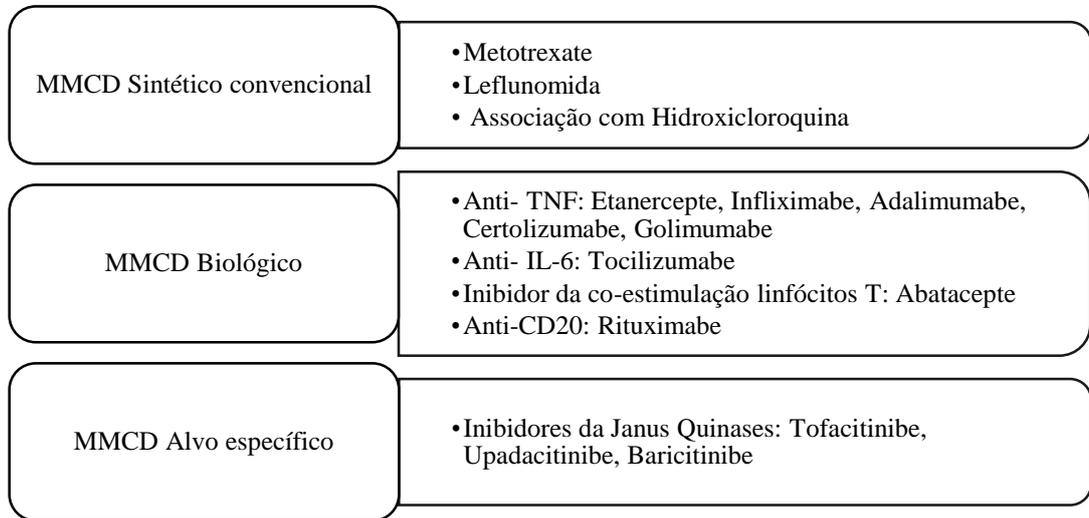
Participaram da pesquisa pessoas com diagnóstico de artrite reumatóide segundo os critérios do *American College of Rheumatology* (ACR) de 1987 e/ou ACR/EULAR 2010 (ALETAHA et al., 2010), provenientes do Setor de Reumatologia do Ambulatório Maria da Glória UFTM, no período de Outubro 2021 a Maio 2022, sendo recrutados um total de 35 indivíduos. Os participantes foram divididos em grupos conforme a terapêutica de base (DMARDs convencionais, biológicos ou alvo-específicos) (vide figura 4). Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo A). Foram recrutados, ainda, pessoas que não apresentavam doenças inflamatórias auto-imunes, na proporção de um indivíduo para cada quatro participantes portadores de artrite reumatóide, objetivando a avaliação basal das citocinas pró-inflamatórias.

Não foi realizado o pareamento durante a fase de coleta de amostras devido a dificuldades técnicas: redução no número de atendimentos ambulatoriais devido a novo fluxo de pacientes no Ambulatório durante a pandemia de Covid-19, redução no aporte de pacientes de outras cidades do triângulo sul do estado de Minas Gerais devido às restrições municipais decorrentes da pandemia de Covid-19, aumento substancial no número de infecções (principalmente de vias aéreas) inviabilizando coletas de amostras biológicas, dificuldade no acesso à realização do exame de densitometria óssea (autorização demorada do município de origem, tempo prolongado na marcação e realização do exame complementar). O pareamento posterior, durante a fase da estatística, também foi inviabilizado devido ao pequeno número de pacientes incluídos para avaliação em cada grupo.

Os pacientes que participaram do estudo foram atendidos no ambulatório de Reumatologia do HC-UFTM, com a avaliação clínica e a obtenção de amostra de sangue (5mL) para a análise laboratorial de citocinas e solicitação de exames de imagem (densitometria óssea) para serem avaliados no retorno ambulatorial. Não houve qualquer intervenção na terapêutica da doença de base pelo estudo.

Todos os pacientes que participaram deste registro assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, previamente aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (CAAE: 46069821.4.0000.8667).

Figura 4- Grupos de pacientes com Artrite Reumatoide e sua separação conforme terapêutica para doença de base



Legenda: MMCD: droga modificadora de doença reumática; TNF: Fator de Necrose Tumoral; IL-6: interleucina 6; CD20: antígeno de linfócito B CD20

### **Crítérios de Inclusão**

A população estudada compreendeu pacientes com Artrite Reumatoide estabelecida pelos critérios ACR 1987 e/ou ACR/EULAR 2010 (ALETAHA et al., 2010) em uso de terapia de forma contínua por mais de 6 meses, com idade superior a 20 anos até 60 anos.

### **Crítérios de Exclusão**

Foram excluídos pacientes com suspeita ou confirmação de malignidade nos últimos 5 anos, infecção viral ou bacteriana em atividade no momento da consulta, mulheres em menopausa sem terapia de reposição hormonal atual e regular ou pela recusa do paciente. A recusa não interferiu na avaliação clínica habitual e seguimento clínico ambulatorial do mesmo.

### **Procedimento de coleta de dados**

Foram coletados os seguintes dados em anamnese e revisão de prontário: idade, sexo, cor de pele (autodeclarado), tempo de diagnóstico da artrite reumatóide, medicações em uso (tipos de MMCD, corticóide e dose atual), DAS-28 (VHS e PCR), comorbidades, fraturas prévias, hábitos de vida (atividade física, tabagismo, etilismo), quantificação da ingesta de cálcio (calculadora virtual online da *National Osteoporosis Foundation* retratada pelo anexo B e

disponível pelo site: < <https://www.osteoporosis.foundation/educational-hub/topic/calcium-calculator>>), peso e altura (realização do índice de massa corporal), estratificação de risco de fratura pelo FRAX/NOGG e história familiar de fratura de bacia. O instrumento de coleta dos dados e revisão de prontuário encontra-se no anexo C.

Exames laboratoriais regulares a serem avaliados (coletados previamente à pesquisa) e coletados no laboratório assistencial do Hospital de Clínicas da UFTM: fator reumatóide e autoanticorpos contra peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP), proteína C reativa, uréia e creatinina, telopeptídeo C-terminal (CTX), 25-OH- vitamina D e paratormônio.

Para a avaliação dos marcadores inflamatório (TNF $\alpha$  e IL-6) foram coletados 5 mL de sangue periférico em tubo de coleta com heparina de sódio no momento da inclusão do estudo, em sala de pesquisa adequada (Ambulatório Maria da Glória, 3º andar, sala 11). As amostras foram centrifugadas e o soro coletado armazenado a -80°C até a realização dos testes no laboratório do IPON, simultaneamente.

A densidade mineral óssea (DMO – “*bone mineral density*”) foi avaliada por meio de densitometria óssea, em aparelho de densitometria óssea (GE Prodigy) localizado na Unidade de Diagnóstico por Imagem e Diagnósticos Especializados do Hospital de Clínicas da UFTM, sendo realizada nos sítios convencionais (quadril e coluna lombar).

### **Determinação das concentrações das citocinas**

A determinação das concentrações de TNF $\alpha$  e IL-6, por meio da técnica de ELISA, no soro obtido do sangue periférico dos pacientes, utilizando-se pares de anticorpos monoclonais comerciais disponíveis da BD OptEIA™. O procedimento foi executado conforme protocolo fornecido pelo fabricante, seguindo seis procedimentos consecutivos. Inicialmente as placas com poços para cada paciente e controle analisado foram sensibilizadas com 100  $\mu$ l de anticorpos monoclonais específicos para a captura da citocina desejada diluída em “*coating buffer*”. Repouso de 12 horas em geladeira e então foram realizadas 3 lavagens com “*wash buffer*” previamente preparado conforme instruções do fabricante. Em cada poço foi adicionado 100  $\mu$ l de proteína padrão seguindo diluições seriadas 1:1 do “*assay diluent*” a partir das concentrações iniciais indicadas. As placas repousaram a temperatura ambiente por uma hora e foram lavadas por três vezes com “*wash buffer*”. O terceiro passo foi a adição de 100  $\mu$ l do soro a ser analisado em cada poço, organizando as amostras em placa conforme a numeração por código para cada amostra de paciente coletado. Novamente repousaram à temperatura ambiente por duas horas e foram lavadas por cinco vezes com “*wash buffer*”. A seguir, foram adicionados 100  $\mu$ l/poço do anticorpo detector da citocina a ser dosada. As placas foram incubadas por 1 hora à temperatura ambiente e novamente lavadas por cinco vezes em “*wash buffer*”. Então,

adicionou-se 100 µl/poço de TMB Substrate Reagent Set (BD OptEIA™) e após 30 minutos mais 50 µl/poço de ácido fosfórico como solução de parada. Após adição do ácido foi realizada a leitura da placa de ELISA através do leitor automático Spectra<sup>max</sup> 384 Plus, sendo os resultados obtidos pela diferença entre as absorvâncias 450 e 570nm.

A concentração de cada citocina do soro dos referidos grupos foram expressas em pg/ml através da comparação com as absorvâncias obtidas da curva padrão da respectiva citocina, sendo realizada simultaneamente.

### **Procedimentos de análise dos dados**

Os dados clínicos e demográficos foram coletados e armazenados em planilha Excel específica. Posteriormente os dados foram transportados para o software Jamovi (The jamovi project (2020). *jamovi* (Version 1.2) [Computer Software]. (<https://www.jamovi.org>) para a análise estatística. Os participantes foram alocados em grupos conforme sua terapêutica para AR. Nas análises comparativas entre os diferentes grupos utilizou-se o teste Anova *one way*. Pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias foram checados antes da aplicação das técnicas. Foi realizada ainda a Matriz de correlação com o Coeficiente de Pearson (r) para aferir a intensidade e direção das relações lineares. A significância estatística foi considerada para um teste bilateral,  $p < 0,05$ .

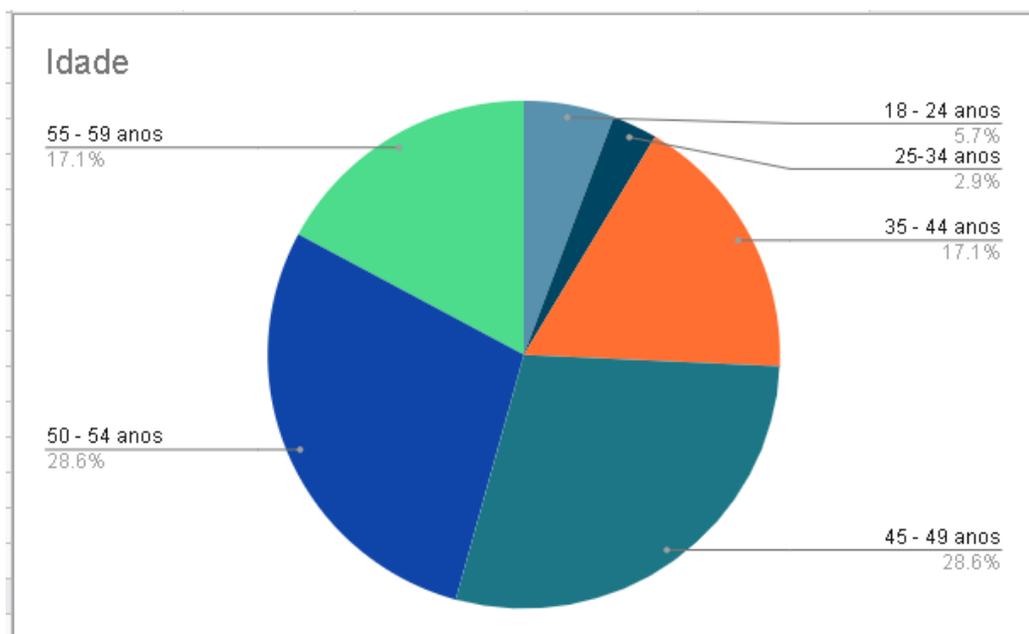
## 6 RESULTADOS

### 6.1 Análise dos dados estatísticos

O estudo incluiu 35 pacientes com artrite reumatóide, dos quais 18 estavam em uso de MMCD sintético convencional, 12 em uso de MMCD biológicos e 5 em uso de MMCD alvo específicos. Além disso, foram coletadas amostras de sangue de oito controles (dois homens e seis mulheres) que não apresentavam doenças crônicas imunomediadas, amostra representativa pareada em idade e sexo com os indivíduos em estudo, somente para avaliação basal das citocinas pró-inflamatórias.

Em relação aos dados demográficos coletados, a distribuição de idade encontra-se disponível na figura 5. A amostra apresentou predominância feminina (85,7%). Sobre a auto declaração da cor de pele obtivemos 34,3% de negros, 28,6% de pardos, 37,1% de brancos e nenhum amarelo ou índio.

Figura 5- Distribuição por idade entre os indivíduos estudados



Fonte: da autora.

O índice de massa corporal foi calculado em todos os indivíduos, sendo que 42,9% são eutróficos, 28,6% estão com sobrepeso e 25,7% encontram-se em diferentes graus de obesidade.

As comorbidades foram variadas, com equivalente predominância entre hipertensão arterial e dislipidemia (40%, n=12, para cada condição nosológica separadamente avaliada), transtornos de humor (ansiedade, depressão) e distúrbios gastrointestinais também ocupando o segundo lugar (n=10, 33%), 6 pacientes com hipotireoidismo (20%). Ainda avaliando demais dados demográficos, 79,4% dos pacientes são sedentários, 26,5% são tabagistas com carga tabágica média de 18,8 maços/ano e 14,7% são etilistas (3 ou mais unidades ao dia). A tabela 1 reúne outras características demográficas e clínicas gerais dos participantes do estudo.

Tabela 1- Características clínicas e sociodemográficas dos participantes com AR

	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Idade (anos)	35	47.2	21.0	59.0	9.05
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	35	27.5	18.6	42.9	6.27
Tempo de Doença (anos)	35	8.4	1.0	30.0	6.67
DAS-28 (VHS)	35	3.1	0.4	7.1	1.42
DAS-28 (PCR)	35	2.6	1.0	6.6	1.30
CTX (ng/mL)	35	0.4	0.0	0.9	0.23
DMO Coluna (g/cm <sup>2</sup> )	35	1.0	0.7	1.4	0.18
DMO Colo femoral (g/cm <sup>2</sup> )	34	0.9	0.6	1.4	0.15
DMO Fêmur total (g/cm <sup>2</sup> )	33	0.91	0.5	1.2	0.14
Dose Prednisona (mg/dia)	35	5.6	0.0	20.0	5.36
PCR (mg/dL)	35	0.9	<0.2	4.5	1.10
	<b>Contagem</b>	<b>Acumulativa</b>			
<b>Tipo de Medicamento</b>					
MMCD sc	18	18			
MMCD ae	5	23			
MMCD bio	12	35			

Fonte: da autora.

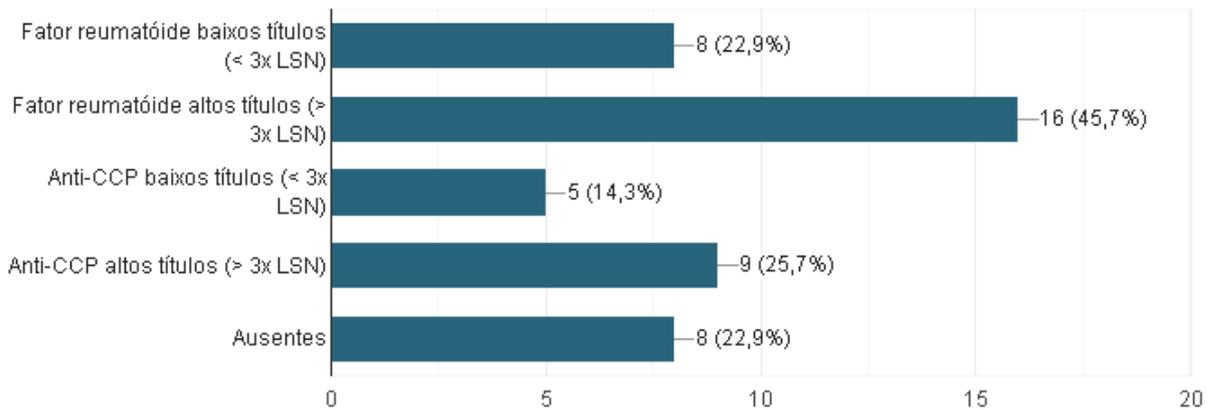
Legenda: IMC: índice de massa corporal; DAS-28: índice de atividade de doença; VHS: velocidade de hemossedimentação; PCR: proteína C reativa; CTX: C telopeptídeo; BMD: densidade mineral óssea; MMCD: droga modificadora de doença reumática; MMCD sc: sintético convencional; MMCD ae: alvo-específico; MMCD bio: biológicos.

Sobre o tempo de diagnóstico da artrite reumatóide, 45,8% haviam sido diagnosticados há menos de cinco anos e 54,3% com mais de seis anos. Pacientes com artrite reumatóide soropositiva, isto é, com presença de auto anticorpos em 77,1%, sobretudo do fator reumatóide em altos títulos (45,7%). A presença de fator reumatóide e anti-CCP são independentes e podem coexistir. Outras informações sobre os auto-anticorpos estão descritas na figura 6.

Os níveis de proteína C reativa sérica estavam dentro dos limites da normalidade (< 0,5mg/dL) em 65,7% dos indivíduos; os outros 34,3% apresentavam níveis séricos entre 0,6mg/dL a 5,0 mg/dL. O cálculo do DAS-28 (PCR), que verificou o nível de atividade de doença, evidenciou que quase 66% dos pacientes encontravam-se no alvo terapêutico para artrite reumatóide

(remissão ou baixa atividade de doença), 25,7% estavam em moderada atividade de doença e 8,6% estavam em alta atividade de doença.

Figura 6- Presença de Auto Anticorpos para Artrite Reumatóide

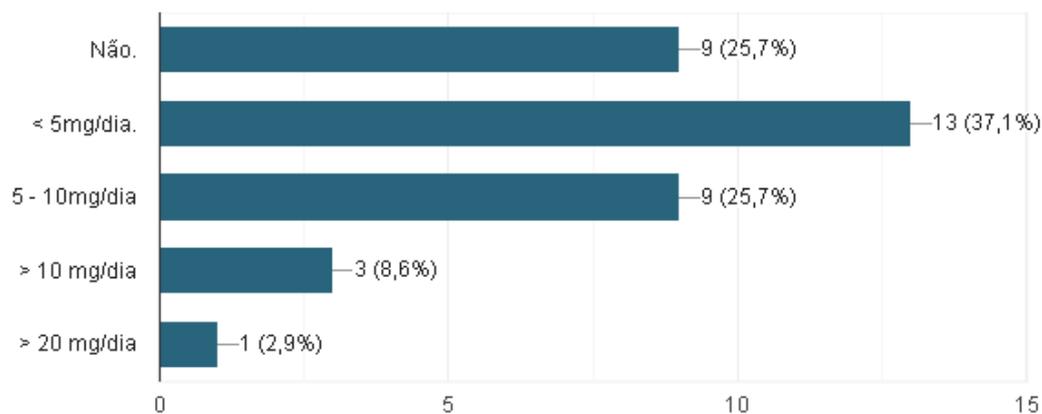


Fonte: da autora.

Legenda: número de pacientes (porcentagem relativa), Anti-CCP: antipeptídeo citrulinado cíclico, LSN: limite superior da normalidade

O uso de corticóide foi avaliado e está ilustrado na figura 7, evidenciando que 37,2% dos pacientes estão em uso contínuo de prednisona acima de 5mg/dia. Doses cumulativas de corticoterapia não foram possíveis de serem avaliadas devido à recorrente supressão de informações nos prontuários e não confiabilidade dos demais dados e relatos. Assim, não foi possível a realização da dose cumulativa de corticóides.

Figura 7 – Relação do uso de Prednisona na amostra

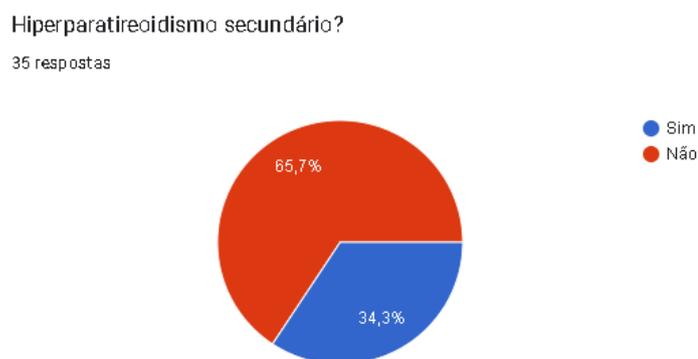


Fonte: da autora.

Em relação à terapia de base para artrite reumatóide 80% dos pacientes estavam em uso de metotrexate, que poderia ser em monoterapia ou associados a outros MMCD biológicos e/ou alvo-específicos. Além disso, 5 pacientes (14,3%) faziam uso de leflunomida e 11 (31,4%) encontravam-se em uso de hidroxicloroquina associada a outro MMCD. De todos os pacientes 34,3% (n=12) estavam em uso de MMCD biológico. A amostra para as medicações Infliximabe, Adalimumabe, Golimumabe e Abatacepte contabilizou com um paciente em cada (2,9% do total da amostra, cada). Etanercepte e Certolizumabe foram avaliados em dois pacientes em cada respectivamente (5,7%). A amostra contou ainda com 5 indivíduos em uso de inibidores de Janus Quinase, sendo que 3 estavam em uso de tofacitinibe e 2 em baricitinibe.

A saúde óssea também foi avaliada por meio de fatores de risco adicionais para baixa massa óssea, evidenciando 75% (n=24) dos pacientes com dieta pobre em cálcio (ingestão diária inferior a 800mg/dia), 21,9% (n=7) estavam em uso contínuo de medicações (p.ex.: anticonvulsivantes), porém somente um paciente apresentou quedas recorrentes. O hiperparatireoidismo estava presente em sua forma secundária em 34,3% dos doentes (n=12) e um paciente estava em pré-operatório para hiperparatireoidismo primário.

Figura 8 – Porcentagem de pacientes com hiperparatireoidismo secundário



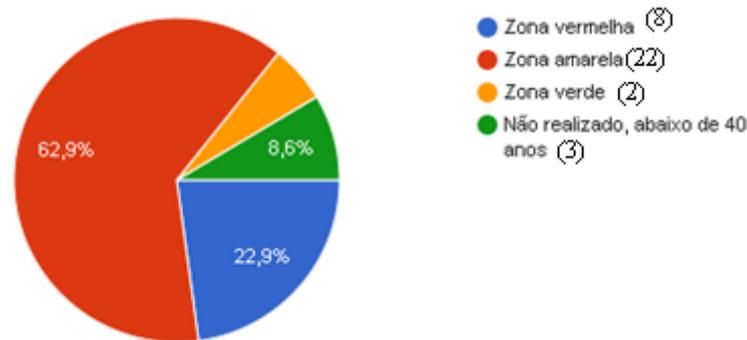
Fonte: da autora.

Legenda: vermelho: ausência de hiperparatireoidismo; azul: presença de hiperparatireoidismo secundário.

O instrumento de cálculo para risco de fraturas (FRAX / NOGG), sem inserção do dado densidade mineral óssea, foi realizado em 32 pacientes, todos maiores de 40 anos (figura 9). Nestes, 63% apresentaram-se na zona amarela, quando há indicação formal para solicitação

de densitometria óssea, 23% já se encontravam na zona vermelha indicando formalmente a terapêutica para osteoporose e somente dois pacientes (5,7%) estavam na zona verde.

Figura 9 – Resultado do cálculo do risco clínico para fraturas por fragilidade - FRAX

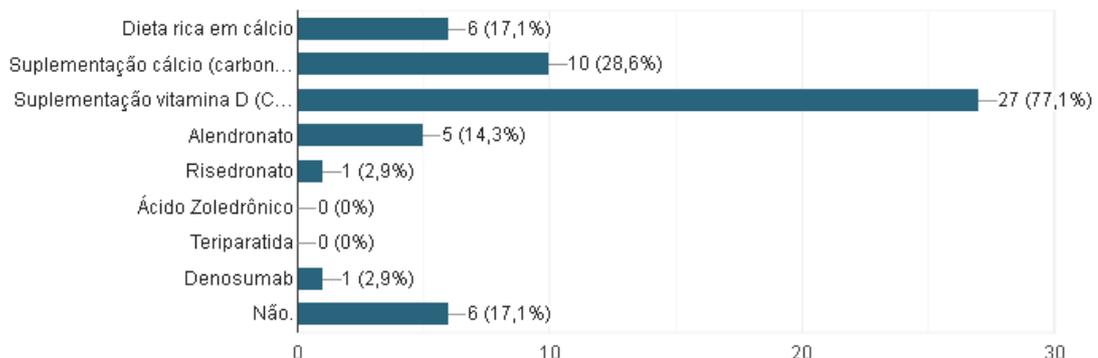


Fonte: da autora.

Legenda: entre parênteses está o número absoluto de pacientes em cada zona do FRAX.

Sobre a profilaxia para osteoporose secundária (inclusive por corticóides) 77,1% (n=27) da amostra já estava em uso de colecalciferol em doses variadas, a suplementação de cálcio oral (carbonato de cálcio, citrato malato) em 28,6% e 7 pacientes (20,1%) estavam em uso de terapia antirreabsortiva (bisfosfonato ou denosumab). Nesse momento um paciente apresentava osteoporose estabelecida com fratura por fragilidade óssea.

Figura 10 – Tipos de tratamento profilático para osteoporose secundária



Fonte: da autora

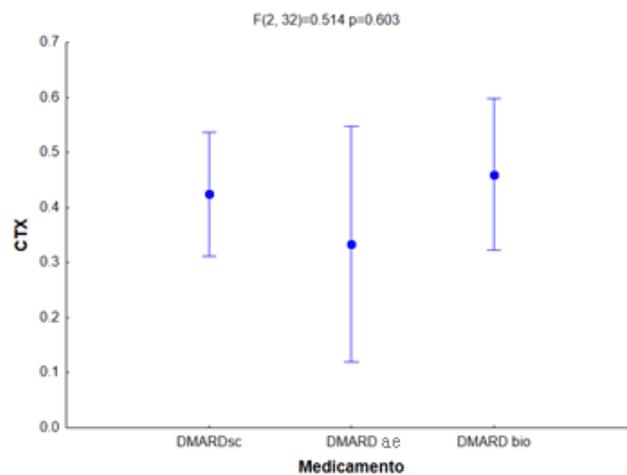
Legenda: Suplementação de cálcio (carbonato de cálcio ou citrato malato); Suplementação de vitamina D (colecalciferol dose semanal superior a 7.000UI).

## 6.2 Comparação entre o perfil ósseo global e inflamação

A avaliação da saúde óssea, denominada como perfil ósseo global, abordou dois aspectos importantes: o C-telopeptídeo por ser um biomarcador da ativação osteoclástica e a densidade mineral óssea, para demonstrar o suposto déficit de massa óssea.

A figura 11 demonstra a comparação nos níveis do C-telopeptídeo (CTX) entre os diferentes grupos terapêuticos, não evidenciando diferenças significativas ( $p=0.603$ ).

Figura 11 - Comparação da variável C-telopeptídeo entre os grupos terapêuticos



Fonte: da autora.

Legenda: CTX: C telopeptídeo (ng/mL); DMARD/ MMCD: droga modificadora de doença reumática; DMARDsc: sintético convencional; DMARDae: alvo-específico; DMARDbio: biológicos.

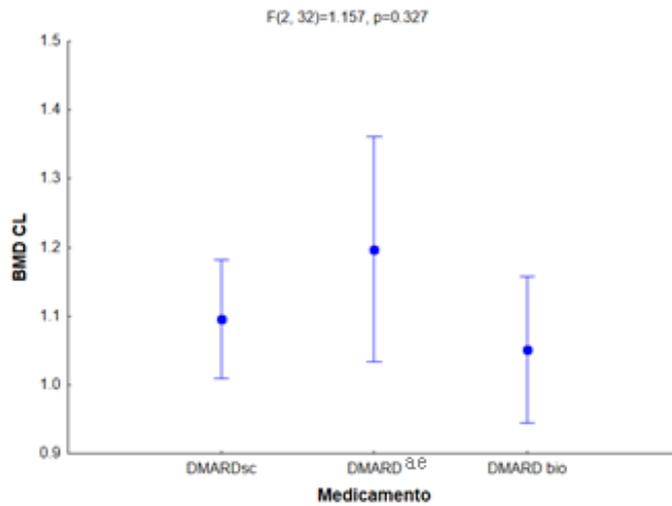
Ao avaliar as medidas obtidas na densitometria óssea a densidade mineral óssea, nos três sítios habituais, coluna lombar (figura 12), colo femoral (figura 13) e fêmur total (figura 14), não foram encontradas diferenças entre os grupos, como descrito na tabela 2.

**Tabela 2** - Descrição da variável densidade mineral óssea entre os grupos terapêuticos

	Média DMO coluna lombar (g/cm <sup>2</sup> )	Desvio-padrão	Mínimo -95.00%	Máximo +95.00%
<b>MMCDsc</b>	1.095	0.042	1.007	1.184
<b>MMCDae</b>	1.197	0.091	0.944	1.451
<b>MMCDbio</b>	1.051	0.050	0.940	1.162
<b>DMO colo femoral</b> (g/cm <sup>2</sup> )				
<b>MMCDsc</b>	0.933	0.047	0.835	1.032
<b>MMCDae</b>	0.867	0.064	0.688	1.046
<b>MMCDbio</b>	0.887	0.032	0.816	0.958
<b>DMO femur total</b> (g/cm <sup>2</sup> )				
<b>MMCDsc</b>	0.917	0.041	0.829	1.005
<b>MMCDae</b>	0.898	0.070	0.703	1.093
<b>MMCDbio</b>	0.909	0.034	0.835	0.983

Legenda: DMO: densidade mineral óssea; MMCD: droga modificadora de doença reumática; MMCD sc: sintético convencional; MMCD ae: alvo-específico; MMCD bio: biológicos.

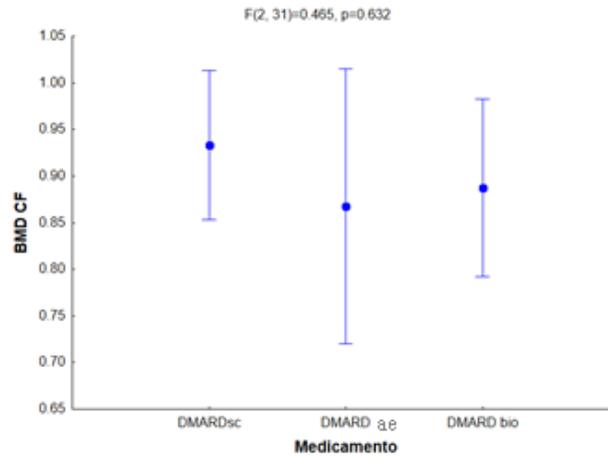
Figura 12 - Comparação entre os grupos analisados para a variável densidade mineral óssea da coluna lombar



Fonte: da autora.

Legenda: BMD CL: densidade mineral óssea da coluna lombar; DMARD: droga modificadora de doença reumática; DMARDsc: sintético convencional; DMARDae: alvo-específico; DMARDbio: biológicos. O número F é a estatística F de Fisher; os números entre parênteses são os graus de liberdade da análise; Valor p: probabilidade de significância.

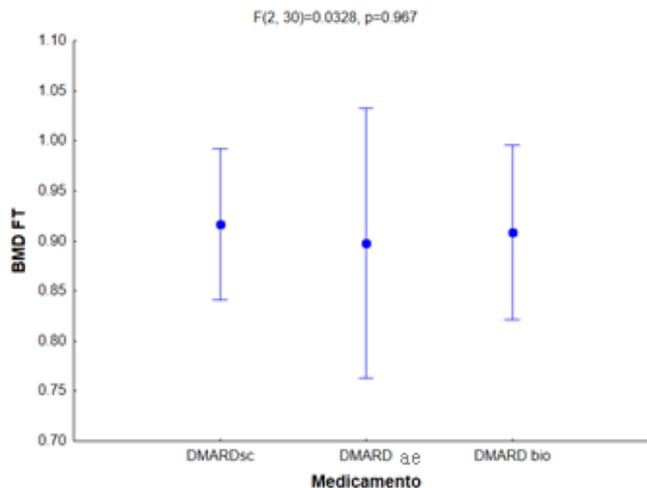
Figura 13 - Comparação entre os grupos analisados para a variável densidade mineral óssea do colo femoral



Fonte: da autora.

Legenda: BMD CF: densidade mineral óssea do colo femoral; DMARD: droga modificadora de doença reumática; DMARDsc: sintético convencional; DMARDae: alvo-específico; DMARDbio: biológicos. O número F é a estatística F de Fisher; os números entre parênteses são os graus de liberdade da análise; Valor p: probabilidade de significância.

Figura 14 - Comparação entre os grupos analisados para a variável densidade mineral óssea do fêmur total

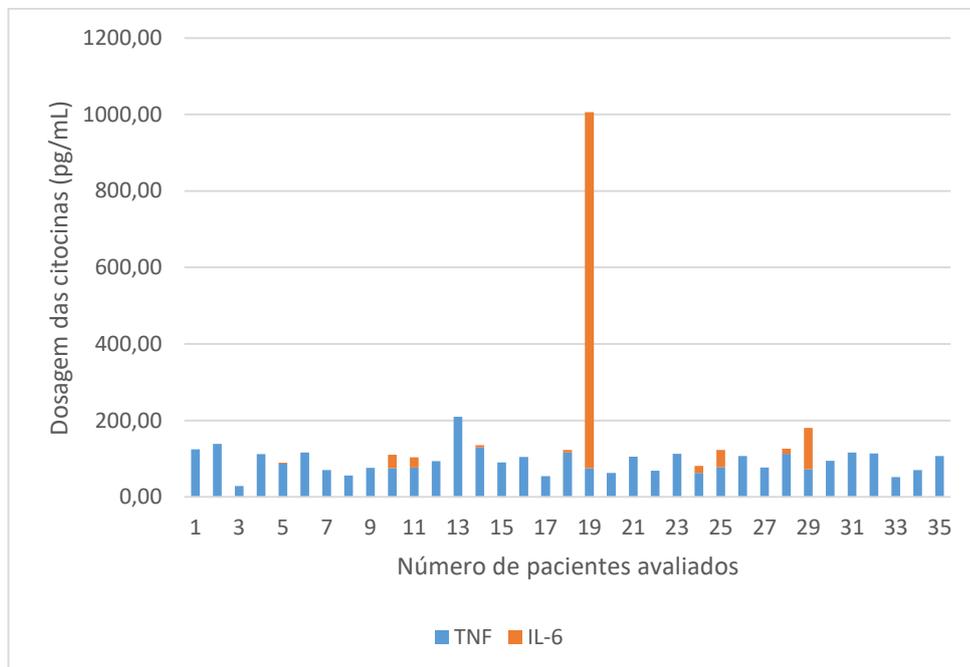


Fonte: da autora.

Legenda: BMD FT: densidade mineral óssea do fêmur total; DMARD: droga modificadora de doença reumática; DMARDsc: sintético convencional; DMARDae: alvo-específico; DMARDbio: biológicos. O número F é a estatística F de Fisher; os números entre parênteses são os graus de liberdade da análise; Valor p: probabilidade de significância.

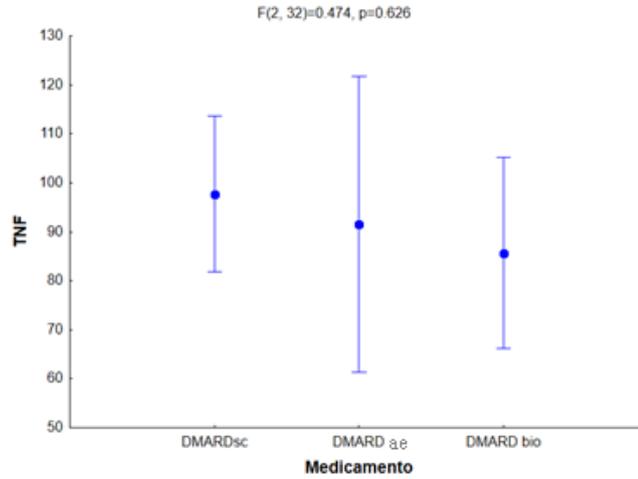
Foram analisadas as duas principais citocinas pró-inflamatórias na artrite reumatóide, o Fator de Necrose Tumoral (TNF) e a Interleucina 6 (IL-6), vide figura 15. A dosagem de TNF esteve presente em todos os indivíduos do estudo, em uma dosagem média de 92,67 pg/ml (desvio padrão  $\pm$  32,62); inclusive nos controles saudáveis houve a captação dessa citocina, com a média de 99,43 pg/ml (desvio padrão  $\pm$  36,93). A comparação nos níveis de TNF entre os grupos encontra-se na figura 16, não sendo observadas diferenças relevantes entre os grupos ( $p=0.626$ ).

Figura 15 – Dosagem das citocinas séricas em cada paciente analisado



Fonte: da autora.

Figura 16– Comparação dos níveis de TNF entre os diferentes grupos terapêuticos

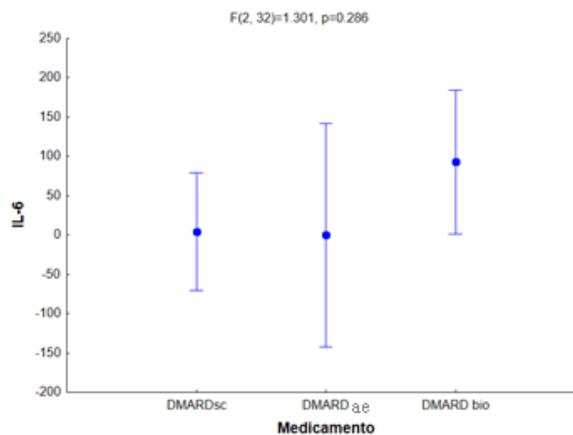


Fonte: da autora

Legenda: TNF: Fator de Necrose Tumoral; DMARD: droga modificadora de doença reumática; DMARDsc: sintético convencional; DMARDae: alvo-específico; DMARDbio: biológicos.

A Interleucina 6 foi evidenciada em alguns pacientes, com a dosagem média de 34,07 pg/ml (máximo 931.56 pg/ml e mínimo 0.0 pg/ml) no grupo com artrite reumatóide e 3,12 pg/ml (desvio padrão  $\pm 7,44$ ) nos controles saudáveis. Entre os grupos com artrite reumatóide aqueles em uso de MMCD biológico apresentou a maior média de 92,98 pg/ml e média de 4,26pg/ml naqueles em uso de MMCD sintético convencional. A análise das dosagens da citocina IL-6 encontram-se na figura 17, também não evidenciando discrepância entre grupos ( $p=0.286$ ).

Figura 17 - Comparação dos níveis de IL-6 entre os diferentes grupos terapêuticos



Fonte: da autora

Legenda: IL-6: interleucina 6; DMARD: droga modificadora de doença reumática; DMARDsc: sintético convencional; DMARDae: alvo-específico; DMARDbio: biológicos.

Para avaliar a correlação especialmente no grupo de DMARD biológico com as variáveis aferidas, realizou-se o Coeficiente de correlação de Pearson, descrito na tabela 2, ressaltando com asterisco aqueles com  $P < 0,01$ . As dosagens das citocinas não se correlacionaram com nenhuma das outras variáveis analisadas. A dose da prednisona, no entanto, correlacionou-se positivamente com o índice de atividade de doença DAS-28 PCR.

Tabela 3 – Correlação entre as variáveis de interesse no grupo MMCD biológico

	CTX	DMO CL	DMO CF	DMO FT	TNF	IL-6	DAS-28 (PCR)	DAS-28 (VHS)	Dose Prednisona (mg/dia)
CTX	1.00	-0.34	-0.43	-0.46	-0.23	0.18	0.33	0.18	0.47
DMO CL	-0.34	1.00	0.89	0.87	0.04	-0.41	-0.29	0.01	0.04
DMO CF	-0.43	0.89	1.00	0.93	0.04	-0.29	-0.49	-0.22	0.00
DMO FT	-0.46	0.87	0.93	1.00	0.12	-0.29	-0.24	0.04	0.15
TNF	-0.23	0.03	0.04	0.12	1.00	-0.21	0.01	-0.00	-0.32
IL-6	0.18	-0.41	-0.29	-0.29	-0.21	1.00	-0.12	-0.18	0.02
DAS-28 (PCR)	0.33	-0.29	-0.49	-0.24	0.01	-0.12	1.00	0.89	<b>0.61</b>
DAS-28 (VHS)	0.18	0.01	-0.22	0.04	-0.00	-0.18	0.89	1.00	0.54
Dose Prednisona (mg/dia)	0.47	0.04	0.01	0.15	-0.31	0.02	<b>0.61</b>	0.54	1.00

Fonte: da autora.

Legenda: Os valores acima são o coeficiente de Pearson (r); os valores em negrito apresentam  $p < 0,01$ . CTX: C telopeptídeo; DMOCL: densidade mineral óssea da coluna lombar; DMO CF: densidade mineral óssea do colo femoral; DMO FT: densidade mineral óssea do fêmur total; TNF: fator de necrose tumoral; IL-6: interleucina 6; DAS-28: índice de atividade de doença; VHS: velocidade de hemossedimentação; PCR: proteína C reativa.

### 6.3 Avaliação global dos pacientes com Artrite Reumatóide

A avaliação de todo o grupo amostral, sem a diferenciação entre grupos terapêuticos, evidenciou pontos importantes. A avaliação foi realizada por meio do Coeficiente de correlação de Pearson para aferir o grau de correlação entre duas variáveis dentre as diversas avaliadas.

As concentrações das citocinas TNF e IL-6 não se correlacionam de modo significativo com nenhuma das variáveis analisadas. Entretanto a dose de prednisona obteve correlação positiva e significativamente com CTX ( $r=0.371$ ;  $p < 0,01$ ), assim como o DAS-28(PCR) ( $r=0.422$ ;  $p <$

0,01). As demais correlações não foram significativas ou já apresentam correlação previamente conhecida (p.ex.: DAS-28 PCR e DAS-28 VHS).

Tabela 4 – Correlação entre as variáveis de interesse

	CTX	DMO CL	DMO CF	DMO FT	TNF	IL-6	DAS-28 (PCR)	DAS-28 (VHS)	Dose Prednisona (mg/dia)
CTX	1.00	-0.34	-0.23	-0.31	0.27	0.17	0.22	0.18	<b>0.37</b>
DMO CL	-0.34	1.00	0.69	0.75	-0.15	-0.28	-0.15	-0.16	-0.05
DMO CF	-0.23	0.69	1.00	0.92	-0.13	-0.14	-0.27	-0.23	-0.03
DMO FT	-0.31	0.75	0.92	1.00	-0.16	-0.14	-0.24	-0.20	0.07
TNF	0.27	-0.15	-0.13	-0.16	1.00	-0.11	-0.25	-0.27	-0.05
IL-6	0.17	-0.28	-0.14	-0.14	-0.12	1.00	-0.09	-0.05	0.05
DAS-28 (PCR)	0.22	-0.15	-0.27	-0.24	-0.25	-0.09	1.00	0.81	<b>0.42</b>
DAS-28 (VHS)	0.18	-0.16	-0.23	-0.20	-0.27	-0.05	0.81	1.00	0.26
Dose Prednisona (mg/dia)	<b>0.37</b>	-0.05	-0.03	0.08	-0.05	0.05	<b>0.42</b>	0.26	1.00

Fonte: da autora

Legenda: Os valores acima são o coeficiente de Pearson (r); os valores em negrito apresentam  $p < 0,01$ . DMARD bio: droga modificadora de doença reumática biológica; CTX: C telopeptídeo; DMO CL: densidade mineral óssea da coluna lombar; DMO CF: densidade mineral óssea do colo femoral; DMO FT: densidade mineral óssea do fêmur total; TNF: fator de necrose tumoral; IL-6: interleucina 6; DAS-28: índice de atividade de doença; VHS: velocidade de hemossedimentação; PCR: proteína C reativa.

## 7 DISCUSSÃO

A artrite reumatóide é uma doença imunomediada, crônica e sem cura que acomete preferencialmente mulheres entre a terceira e quinta década de vida (BRASIL, 2020). A ativação crônica e descontrolada de células da imunidade inata produzindo citocinas pró inflamatórias que não atuam apenas nas articulações sinoviais, como também de forma sistêmica (WALSH et al., 2018; ORSOLINI et al., 2019; TAKAYANAGI, 2021), promovendo o desarranjo funcional na homeostase óssea global, com a tendência à hiperativação da reabsorção óssea (WALSH et al., 2018; WYSHAM; BAKER; SHOBACK, 2021; TAKAYANAGI, 2021). Nesse contexto, a terapêutica adequada e otimizada para a doença de base em estudo, promoveria uma redução nos níveis de citocinas pró inflamatórias circulantes com menor tendência à perda de massa óssea conforme descrito por Yoshii *et al* (YOSHII; CHIJIWA; SAWADA, 2020).

A pesquisa foi delineada no sentido de possibilitar a avaliação momentânea da dinâmica óssea, comparando as diferentes terapêuticas da AR, pois existem relatos de superioridade em termos de evitar perda de massa óssea, por parte das medicações biológicas (ZERBINI et al., 2015; TAKAYANAGI, 2009; BULTINK et al., 2012; GULYÁS et al., 2020; VIS et al., 2006; CHEN et al., 2020; AL-BOGAMI et al., 2021). Assim, a hipótese de que pacientes com artrite reumatóide em terapêutica biológica poderiam ter densidade mineral óssea superior e menores níveis de CTX e citocinas pró inflamatórias foi avaliada.

Os resultados não conseguiram corroborar a hipótese aventada, sugerindo ausência de correlação entre as terapêuticas medicamentosas para artrite reumatóide, níveis de citocinas pró inflamatórias (TNF e IL-6) séricas e medidas de avaliação óssea (densidade mineral óssea e biomarcador para reabsorção óssea). Uma explicação possível se deveria ao número pequeno da amostra, que pode ter impactado negativamente no tamanho do efeito. Outros estudos sugerem que independente da terapêutica realizada, obter a remissão ou a baixa atividade de doença conforme orientado no “*treat-to-target*” já resultaria em menor atividade osteoclástica (ORSOLINI et al., 2019; YOSHII; CHIJIWA; SAWADA, 2020). Na presente amostra 66% dos pacientes estavam no alvo terapêutico para artrite reumatóide (remissão ou baixa atividade de doença), podendo também ser um fator que sugere menores níveis circulantes de citocinas e baixa reabsorção óssea.

A citocina IL-6 é peça central na inflamação da artrite reumatóide, sendo produzida por diversas células, incluindo monócitos, linfócitos e fibroblastos (MELO et al, 2021), tendo como principais ações hemoatopoiese, metabolismo ósseo, desenvolvimentlo embriogênico, entre outros, além da inflamação (HIRANO, 2021). O nível da IL-6 é maior no líquido sinovial que no sague dos pacientes com artrite reumatóide (MELO et al, 2021) podendo ser considerado inclusive um biomarcador para a atividade da doença. Nossa avaliação não evidenciou tal fato.

Uma das hipóteses para não ter encontrado diferenças entre os grupos foi o fato de que o presente estudo é um estudo transversal, não capturando, assim a progressiva mudança na densidade mineral óssea. O remodelamento ósseo é processo lento (ZERBINI et al., 2017; RADOMINSKI et al., 2017a) e a modificação na tendência de redução da reabsorção óssea pode não ter sido avaliada de forma adequada em um estudo transversal, como sugere Chen e colaboradores (CHEN et al., 2020). Eles concluíram que a densidade mineral óssea em todos os sítios medidos (coluna lombar, fêmur total e colo femoral) aumentou ao longo de três anos em pacientes com AR em uso de MMCD biológico e alvo específico (CHEN et al., 2020). O acompanhamento a longo prazo também foi ressaltado como essencial para avaliação de biomarcadores ósseos, por Tomizawa e colaboradores (TOMIZAWA et al., 2019). A avaliação foi realizada comparando densitometrias realizadas em intervalo de dois anos, conseguindo correlacionar a modificação da densidade óssea em diferentes sítios analisados com biomarcadores específicos (TOMIZAWA et al., 2019).

A verificação da dose cumulativa de corticóides entre os grupos não foi concretizada conforme o planejamento inicial. Tal fato se sucedeu por fatores inesperados como a não descrição correta das doses de medicações ao longo das consultas e baixa aderência dos pacientes às doses previamente prescritas, frequentemente aumentando as doses por conta própria inclusive com doses “extraoficiais” intramusculares (automedicação), impossibilitando uma coleta de dados correta e verificável.

Comprovamos o uso diário de prednisona em 74,3% dos pacientes, a maioria (62,8%) com doses inferiores a 10 mg/dia. Essa prática vai de encontro às orientações atuais de terapêutica para AR, que preconizam a menor dose necessária de prednisona no menor tempo possível (MOTA; KAKEHASI; GOMIDES, 2018; BRASIL, 2020). A orientação de evitar ao máximo o uso de corticóides dá-se na tentativa de evitar e minimizar os eventos adversos, como aumento no risco de hipertensão arterial, diabetes mellitus tipo 2, obesidade, glaucoma, catarata precoce e a osteoporose induzida pelos glucocorticóides (COMPSTON et al., 2017; BRASIL. Ministério da Saúde, 2014; RADOMINSKI et al., 2017b; WYSHAM; BAKER; SHOBACK,

2021). Ao final dos resultados foi evidenciada a correlação entre dose de prednisona e CTX ( $r=0.371$ ,  $p < 0,01$ ) na avaliação global dos pacientes, o que pode ser justificado pelo efeito catabólico do corticóide no tecido ósseo (WANG et al., 2020).

Em contraste Yoshii *et al* (YOSHII; CHIJIWA; SAWADA, 2020) comentam sobre os resultados conflitantes de diversos estudos, pondo em discussão se baixas doses de corticóides (isto é, prednisona inferior a 7,5 mg/dia) efetivamente seria fator de risco para osteoporose. Eles citam ainda que as doses cumulativas e tempo prolongado de uso de corticóides são os fatores de risco mais relevantes.

Os fatores que aumentam a reabsorção óssea em pacientes com artrite reumatóide não se limitam à própria atividade de doença, devendo ser considerados efeitos tradicionais como índice de massa corporal, história familiar para fraturas de quadril por fragilidade, uso de corticóides, tabagismo, etilismo e causas conhecidas para osteoporose secundária; todos esses fatores de risco clínico são considerados pela calculadora de risco clínico FRAX (BUKSMAN et al., 2014; RADOMINSKI et al., 2017<sup>a</sup>; SOUSA et al, 2018). Os resultados demonstram que 86% dos avaliados estavam nas zonas amarela e vermelha do cálculo de risco para fraturas nos próximos 10 anos. Esse número reforça a necessidade de avaliação contínua e profilaxia para osteoporose secundária nesses pacientes, como indica a organização mundial de saúde nos protocolos para solicitação de densitometria óssea (BUKSMAN et al., 2014; FARDELLONE et al., 2020; LOURES et al., 2017; RADOMINSKI et al., 2017; ZANCHETTA, 2012).

A profilaxia para osteoporose é realizada por meio de dieta rica em cálcio, aproximadamente 1.000mg/dia (RADOMINSKI et al., 2017; ZANCHETTA, 2012), ajuste na dose de 25-OH-vitamina D sérica para níveis acima de 30 ng/mL, evitar hiperparatireoidismo ou hipotireoidismo e estímulo à atividade física (BUKSMAN et al., 2014; FARDELLONE et al., 2020; LOURES et al., 2017; RADOMINSKI et al., 2017; ZANCHETTA, 2012). Os resultados da avaliação nesse quesito demonstraram fato descrito pelo estudo BRAZOS (PINHEIRO et al., 2010), ou seja, a baixa ingestão de cálcio na dieta da população, estimada em torno de 400mg/dia nesse estudo. Esse grande déficit entre ingestão de cálcio real e necessidade diária se reflete nos altos índices de hiperparatireoidismo secundário, incidente em pouco mais de 34% da amostra avaliada. A suplementação de colecalciferol foi a profilaxia mais comumente utilizada (77,1%) se comparada com a suplementação de cálcio (28,6%). Necessário recordar, porém, que a principal função da vitamina D é a absorção intestinal ativa de cálcio (RADOMINSKI et al., 2017; ZANCHETTA, 2012). Nesse ensejo é crucial a avaliação e reposição combinada desses fatores para a otimização dos resultados. Na prática clínica diária

percebe-se que por vezes a falta de educação ao paciente nesses diversos fatores fazem com que ocorra baixa adesão à profilaxia.

Por fim, o estilo de vida também interfere no remodelamento ósseo (BORTOLON; DE ANDRADE; DE ANDRADE, 2011; FARDELLONE et al., 2020; LOURES et al., 2017; PINHEIRO et al., 2010b; RADOMINSKI et al., 2017), reduzindo o estímulo à formação óssea e aumentando a reabsorção óssea. O sedentarismo foi relatado por quase 80% dos avaliados, índice alarmante, tendo em vista que a atividade física tem fator anti-inflamatório sobre a artrite reumatóide (LORENZO; HOROWITZ; CHOI, 2008; SRIVASTAVA; DAR; MISHRA, 2018; TAKAYANAGI, 2009) sendo extremamente útil, com outros benefícios como ganho na amplitude de movimento e estabilidade, ganho de massa óssea, redução no risco de quedas (logo, de fraturas), melhora na qualidade de vida global dos pacientes (PINHEIRO et al., 2010b; RADOMINSKI et al., 2017). Tabagismo foi relatado por mais de um quarto dos pacientes e etilismo em quase 15%, também têm impacto negativo grave na inflamação sistêmica dificultando o tratamento para artrite reumatóide e osteoporose (ADAMI; SAAG, 2019; BRASIL, 2020).

## 8 CONCLUSÃO

A presente pesquisa objetivou a avaliação da correlação entre tecido ósseo e a inflamação sistêmica decorrente da artrite reumatóide, verificando o impacto da terapêutica para AR nessa relação. Nossa hipótese de que a terapêutica biológica teria um efeito protetor ao osso, reduzindo a reabsorção óssea sistêmica com maiores índices de densidade mineral óssea, não foi comprovada. Possíveis fatores que interferiram no resultado apontam principalmente para o número pequeno de pacientes avaliados não apresentavam tamanho adequado de efeito desejado. Importante ressaltar que o estudo foi realizado em vigência da pandemia de Covid-19, interferindo na captação de pacientes (limitado acesso ao ambulatório, realização dos exames de imagem represados) e ao aumento expressivo de casos de infecções agudas virais (Covid-19 e outras como herpes zoster por exemplo) e bacterianas que inviabilizaram temporariamente a coleta de amostras para dosagem de citocinas e, por vezes, resultando em perda de potenciais indivíduos para o estudo.

O desenho transversal do estudo também interferiu nos resultados, tendo em vista que os efeitos protetivos dos biológicos sobre o remodelamento ósseo, em especial os inibidores da TNF, são progressivos e cumulativos, principalmente na análise da densidade mineral óssea. O fato do estudo ser transversal limita o poder de análise desse quesito. A avaliação do CTX, biomarcador da função osteoclástica, evidencia a tendência à reabsorção óssea. Os dados não demonstraram a correlação entre as citocinas avaliadas e as concentrações de CTX, no entanto evidenciaram sua relação com a dose diária de prednisona. Esse ponto em especial ressalta a importância da profilaxia e tratamento da osteoporose induzida por glucocorticóides.

O estudo conseguiu abordar os diversos tópicos desse intrincado relacionamento entre o dinâmico remodelamento ósseo e artrite reumatóide. Não foram esgotadas as possibilidades de avaliação desses outros fatores e correlações (p.ex.: tabagismo e CTX, anti-CCP e IL-6), avaliação das outras citocinas que foram previamente descritas como influenciadoras da reabsorção óssea, com ênfase na IL-17. Assim, mesmo que a análise atual seja um foco em parte dos dados já coletados, esses dados são extremamente ricos para futuras avaliações.

Ponto positivo dessa linha de estudo foi o alerta para pontos específicos a serem otimizados na consulta clínica de rotina do paciente com artrite reumatóide, principalmente no estímulo a mudanças no estilo de vida, com cessação ao tabagismo, estímulo à prática de exercícios físicos de rotina, exposição solar naqueles sem contraindicação e dieta balanceada e rica em cálcio.

Enfocou ainda a necessidade de avaliação da saúde óssea mesmo naqueles pacientes jovens, pois os riscos para futura osteoporose e fraturas é demasiado alto. Pontos negativos foram a avaliação transversal e o pequeno número de pacientes avaliados com todos os desdobramentos já citados.

Apesar da hipótese inicial não ter sido confirmada nesse estudo, o resultado reforça que a estratégia terapêutica *treat-to-target* para artrite reumatóide apresenta benefícios ao paciente que superam o objetivo primário evitando a progressão radiográfica da doença e deformidades articulares. Além disso, o tópico abordado (osteimunologia) é atual e corrobora com a melhor triagem clínico-laboratorial e radiológica dos pacientes, certamente favorecendo à profilaxia da perda de massa óssea ao longo dos anos.

## REFERÊNCIAS

ADAMI, G.; SAAG, K. G. Osteoporosis Pathophysiology, Epidemiology, and Screening in Rheumatoid Arthritis. **Current Rheumatology Reports**, v. 21, n. 7, 2019.

AL-BOGAMI, M. et al. TNF $\alpha$  inhibitors reduce bone loss in rheumatoid arthritis independent of clinical response by reducing osteoclast precursors and IL-20. **Rheumatology (United Kingdom)**, v. 60, n. 2, p. 947–957, 1 fev. 2021.

ALETAHA, D. et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. **Arthritis and Rheumatology**, v. 62, n. 9, p. 2569 — 2581, 2010.

ARAÚJO, D. V.; OLIVEIRA, J. H. A. de; BRACCO, O. L. Custo da fratura osteoporótica de fêmur no sistema suplementar de saúde brasileiro. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, scielo, v. 49, n. 6, p. 897 — 901, 2005. ISSN 0004-2730.

BELLAN, M.; PIRISI, M.; SAINAGHI, P. P. Osteoporosis in Rheumatoid Arthritis: Role of the vitamin D/parathyroidhormone system. v. 55, n. 3, p. 256 — 263, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2014.10.007>.

BORTOLON, P. C.; DE ANDRADE, C. L. T.; DE ANDRADE, C. A. F. O perfil das internações do sus para fratura osteoporótica de fêmur em idosos no Brasil: Uma descrição do triênio 2006-2008. **Cadernos de Saude Publica**, v. 27, n. 4, p. 733–742, 2011.

BRASIL. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da artrite reumatoide. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção Especializada à Saúde. Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos.**, 2020. Disponível em: [http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2020/Relatrio\\_Artrite\\_Reumatoide\\_CP\\_21\\_2020.pdf](http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2020/Relatrio_Artrite_Reumatoide_CP_21_2020.pdf). Acesso em: 20 jul. 2022

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n° 224, de 26 de março de 2014. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Osteoporose. Brasília - DF, 2014. Diário Oficial da União, Seção 1, 27 mar. 2014. Acesso em: 18 Mar. 2017. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2014/prt0224\\_26\\_03\\_2014.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2014/prt0224_26_03_2014.html).

BUKSMAN, S. et al. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas, Osteoporose, Portaria SAS/MS n° 451, de 9 de junho de 2014, republicada em 9 de junho de 2014 e retificada em 18 de junho de 2014. p. 22 —, 2014. Disponível em: <http://portalquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/15/Osteoporose.pdf>.

BULTINK, I. E. et al. Inflammatory rheumatic disorders and bone. v. 14, n. 3, p. 224 — 230, 2012.

CHEN, J. et al. The impact of long-term biologics/target therapy on bone mineral density in rheumatoid arthritis: a propensity score-matched analysis. p. 1 — 10, 2020.

COMPSTON, J. et al. UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis. v. 12, n. 1, 12 2017.

- DA MOTA, L. M. H. et al. 2017 recommendations of the Brazilian Society of Rheumatology for the pharmacological treatment of rheumatoid arthritis. **Advances in Rheumatology**, v. 58, n. 1, 2018.
- FARDELLONE, P. et al. Bone Loss, Osteoporosis, and Fractures in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Review. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 10, p. 3361, 2020.
- GEUSENS, P.; LEMS, W. F. Osteoimmunology and osteoporosis. v. 13, n. 5, p. 1 — 16, 2011.
- GINALDI, L. et al. Increased levels of interleukin 31 (IL-31) in osteoporosis. v. 16, n. 1, p. 1 — 7, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12865-015-0125-9>.
- GULYÁS, K. et al. Effects of 1-year anti-TNF- $\alpha$  therapies on bone mineral density and bone biomarkers in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. **Clinical Rheumatology**, v. 39, n. 1, p. 167–175, 2020.
- HIRANO, T. **IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer**. **International immunology**NLM (Medline), , 1 mar. 2021.
- JOSÉ ZANCHETTA. **AUDITORIA REGIONAL DA AMÉRICA LATINA - Epidemiologia, custos e ônus da osteoporose em 2012**. 2012. Online. Disponível em: [https://www.iofbonehealth.org/sites/default/files/media/PDFs/Regiona1%20Audits/2012-Latin America Audit-PT\\_0\\_0.pdf](https://www.iofbonehealth.org/sites/default/files/media/PDFs/Regiona1%20Audits/2012-Latin America Audit-PT_0_0.pdf). Acesso em: 16/07/2020.
- LEE, S. H. et al. **Osteoimmunology: Cytokines and the skeletal system**. v. 41, n. 7, p. 495 — 510, 2008.
- LIU, T. et al. **NF- $\kappa$ B signaling in inflammation**. 2017.
- LORENZO, J.; HOROWITZ, M.; CHOI, Y. Osteoimmunology: Interactions of the bone and immune system. **Endocrine Reviews**, v. 29, n. 4, p. 403–440, 2008.
- LOURES, M. A. R. et al. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da osteoporose em homens. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 57, n. S 2, p. 497–514, 2017.
- MEDEIROS, M. M.; OLIVEIRA, B.; CERQUEIRA, J. et al. Correlação dos índices de atividade da artrite reumatoide (Disease Activity Score 28 medidos com VHS, PCR, Simplified Disease Activity Index e Clinical Disease Activity Index) e concordância dos estados de atividade da doença com vários pontos de corte numa população do nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 55, n. 6, p. 477 — 484, November—December 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0482500415000212?via9o3Dihub>. Acesso em: 20/07/2022.
- Melo, Thayanara Silva et al. Characterization of clinical, laboratory, IL-6 serum levels, and IL-6-174 G/C genetic polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis and Sjögren's syndrome. *Revista da Associação Médica Brasileira* [online]. 2021, v. 67, n. 11 [Accessed 18 July 2022] , pp. 1600-1604. Available from: <<https://doi.org/10.1590/1806-9282.20210665>>. Epub 13 Dec 2021. ISSN 1806-9282. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.20210665>.
- MOTA, L.; KAKEHASI, A.; GOMIDES, A. et al. 2017 recommendations of the Brazilian Society of Rheumatology for the pharmacological treatment of rheumatoid arthritis. **Advances in Rheumatology**, v. 58, n. 2, May 2018. Disponível em:

<https://advancesinrheumatology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42358-018-0005-0#citeas>. Acesso em: 20/07/2020.

ORSOLINI, G. et al. **Effects of biological and targeted synthetic DMARDs on bone loss in rheumatoid arthritis. Pharmacological Research.** Academic Press, 1 set. 2019.

PINHEIRO, M. M. et al. O impacto da osteoporose no Brasil: Dados regionais das fraturas em homens e mulheres adultos - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 50, n. 2, p. 113 — 120, 04 2010.

RADOMINSKI, S. C. et al. Diretrizes brasileiras para o diagnóstico e tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa. *Revista Brasileira de Reumatologia*, Elsevier, São Paulo, v. 57, n. 2, p. 452 — 466, Junho 2017a.

RADOMINSKI, S. C. et al. **Diretrizes brasileiras para o diagnóstico e tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa.** v. 57, n. S 2, p. 452 — 466, 2017b.

SMITH, J. et al. Placeholder Text: A Study. *The Journal of Citation Styles*, v. 3, 2021.

SMOLEN, J.S. Treat-to-target as an approach in inflammatory arthritis. Vol. 28, *Current Opinion in Rheumatology*. Lippincott Williams and Wilkins; 2016. p. 297–302.

SOUSA, C. de J. et al. **FRAX Too1 in Brazil: an integrative literature review following validation.** v. 21, n. 1, p. 108 — 115, 2 2018. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1809-98232018000100108&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-98232018000100108&lng=en&tlng=en). Acesso em: 2020-07- 16T00:00:00+00:00.

SRIVASTAVA, R. K.; DAR, H. Y.; MISHRA, P. K. **Immunoporosis: Immunology of osteoporosis-role of T cells.** v. 9, n. APR, p. 1 — 12, 2018.

TAKAYANAGI, H. **Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone.** v. 5, n. 12, p. 667 — 676, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2009.217>.

TAKAYANAGI, H. **Osteoimmunology as an intrinsic part of immunology.** *International Immunology* Oxford University Press, , 1 dez. 2021.

TOMIZAWA, T. et al. Distinct biomarkers for different bones in osteoporosis with rheumatoid arthritis. *Arthritis Research and Therapy*, v. 21, n. 1, p. 1–9, 2019.

VIS, M. et al. Evaluation of bone mineral density, bone metabolism, osteoprotegerin and receptor activator of the NFκB ligand serum levels during treatment with infliximab in patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 65, n. 11, p. 1495–1499, 2006.

WALSH, M. C. et al. **Updating osteoimmunology: Regulation of bone cells by innate and adaptive immunity.** *Nature Reviews Rheumatology* Nature Publishing Group, , 1 mar. 2018.

WANG, Y. et al. Effects of glucocorticoids on osteoporosis in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporosis International*, v. 31, n. 8, p. 1401–1409, 2020.

WYSHAM, K. D.; BAKER, J. F.; SHOBACK, D. M. **Osteoporosis and fractures in rheumatoid arthritis.** *Current opinion in rheumatology* NLM (Medline), , 1 maio 2021.

YOSHII, I.; CHIJIWA, T.; SAWADA, N. Rheumatoid arthritis in tight disease control is no longer risk of bone mineral density loss. **Osteoporosis and Sarcopenia**, v. 6, n. 2, p. 75–81, jun. 2020.

ZERBINI, C. A. F. et al. Biologic therapies and bone loss in rheumatoid arthritis. **Osteoporosis International**, v. 28, n. 2, p. 429–446, 2017.

ZERBINI, C. et al. Incidence of hip fracture in Brazil and the development of a FRAX model. **Archives of Osteoporosis**, v. 10, n. 28, August 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11657-015-0224-5#citeas>. Acesso em: 20/07/2020.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
TRIÂNGULO MINEIRO -  
HC/UFTM



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Osteoimunologia na Artrite Reumatóide: comparação entre terapias convencionais e biológicas.

**Pesquisador:** GABRIELLA STEFENONI KRUGER

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 46089821.4.0000.8667

**Instituição Proponente:** Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 4.856.250

**Apresentação do Projeto:**

Segundo os pesquisadores: "A Artrite Reumatóide (AR) é uma doença autoimune que afeta as articulações periféricas, caracterizada pela infiltração de células inflamatórias na sinóvia, inflamação sistêmica crônica com destruição do osso periarticular, reduzindo a densidade mineral óssea articular e sistêmica. Assim, é fator de risco para osteoporose tanto pela inflamação, quanto pelo uso de corticoterapia. Estudos descrevem impactos positivos com o uso de terapias biológicas, no remodelamento ósseo, permitindo um estabilidade ou até mesmo o ganho de massa óssea a longo prazo. Objetiva-se avaliar diferenças entre os principais mediadores inflamatórios de osteoporose secundária à artrite reumatóide, a densidade mineral óssea e a dose cumulativa de glucocorticóides entre as diferentes linhas de terapêutica (DMARD sintético convencional e DMARD biológico). Supõe-se que pacientes em uso de DMARD biológico apresentem

densidade mineral óssea superior àqueles em terapia sintética convencional, além de apresentarem menores níveis séricos de citocinas próinflamatórias e menores doses cumulativas de corticóides."

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Geral:** Comparar se existem diferenças no perfil ósseo global por meio da densitometria óssea (coluna lombar L1-L4, fêmur total, colo femoral e nas mãos/ punhos) e nos níveis de citocinas séricas nos diferentes grupos pesquisados (DMARD sintético convencional e DMARD

**Endereço:** R. Benjamin Constant, 16

**Bairro:** Nossa Srª da Abadia

**CEP:** 38.025-470

**UF:** MG **Município:** UBERABA

**Telefone:** (34)3318-5319

**E-mail:** cep.hctm@ebserh.gov.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
TRIÂNGULO MINEIRO -  
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 4.856.250

biológico).

**Objetivos Específicos:** Avaliar se existem diferenças entre o perfil dos principais mediadores inflamatórios (TNF, IL-6, IL-1, IL-17, IL-23 e TGF- $\beta$ ) de osteoporose secundária à artrite reumatóide entre as diferentes linhas de terapêutica da artrite reumatóide (DMARD sintético convencional e DMARD biológico);

Verificar se a dose cumulativa de corticóides é diferente entre os grupos (DMARD sintético convencional e DMARD biológico), para verificar a possível interferência de osteoporose induzida por glucocorticóides;

Realizar avaliação das características clínico-epidemiológicas entre os participantes para permitir comparação e relação entre os grupos de diferentes terapêuticas.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os participantes do estudo terão a avaliação clínica habitual, sem intervenção do estudo em qualquer terapêutica. Os exames laboratoriais a serem colhidos são os de rotina com uma alíquota de 5 mL separados para a dosagem das citocinas. O exame de imagem solicitado, a densitometria óssea, é obtido com baixo grau de irradiação de raios X, sendo seguro para a realização em todos os pacientes e sem apresentar riscos à saúde. Para evitar o risco de quebra de sigilo de dados dos participantes, será atribuído um número para cada participante. Serão beneficiados com uma avaliação minuciosa da saúde óssea todos os participantes, permitindo um diagnóstico mais acurado do seu metabolismo ósseo. Ademais a consulta será a mesma, de rotina, com a avaliação ótima da Artrite Reumatóide.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa a ser realizada terá abordagem quantitativa, tratando-se de natureza aplicada, com objetivo descritivo. Será realizado ensaio clínico observacional, transversal, prospectivo com coleta de dados dos pacientes elegíveis para o estudo (pesquisa de campo). Os participantes serão divididos em dois grupos conforme a terapêutica de base (DMARDs convencionais ou biológicos) e pareados conforme sexo, idade e índices de atividade de doença (DAS-28 PCR). Os pacientes que aceitarem participar do estudo continuarão a ser atendidos no ambulatório de Reumatologia do HC-UFTM, serão avaliados clinicamente, obtenção de amostra de sangue para a análise laboratorial e solicitação de exames de imagem (densitometria óssea) para serem avaliados no retorno ambulatorial. Não haverá quaisquer modificações nas terapêuticas da doença de base pelo estudo (não intervencionista). Todos os pacientes que participarem deste registro assinarão o termo de consentimento livre e esclarecido, previamente aprovado pelo comitê de ética em

Endereço: R. Benjamin Constant, 16

Bairro: Nossa Srª da Abadia

CEP: 38.025-470

UF: MG Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5319

E-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
TRIÂNGULO MINEIRO -  
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 4.856.250

pesquisa. Critérios de Inclusão: A população a ser estudada abrange pacientes com Artrite Reumatóide estabelecida pelos critérios ACR 1987 e/ou ACR/EULAR 2010, em uso de terapia de forma contínua por mais de 6 meses, com idade superior a 20 anos até 60 anos. Os grupos serão divididos em DMARD convencional (metotrexate, leflunomida, sulfassalazina e/ou hidroxicloroquina) e DMARD biológico (anti-TNF: etanercepte, infliximab, adalimumabe, golimumabe e certolizumabe; anti-IL6: tocilizumabe; análogo CTLA4: abatacepte; anti-CD20: Rituximab). Critérios de Exclusão: Serão excluídos pacientes menores de 20 anos e maiores de 60 anos, aqueles que mudaram a terapia de base nos últimos 6 meses, suspeita ou confirmação de malignidade nos últimos 5 anos, mulheres em menopausa sem terapia de reposição hormonal atual e regular ou pela recusa do paciente. A recusa não interferirá na avaliação clínica habitual e seguimento clínico ambulatorial do mesmo. Serão coletados os seguintes dados em anamnese e revisão de prontário: idade, sexo, raça (autodeclarado), tempo de diagnóstico da artrite reumatóide, medicações em uso (tipos de DMARD, corticóide e sua dose cumulativa), DAS-28 (VHS e PCR), comorbidades, quedas e fraturas prévias, história ginecológica e obstétrica, hábitos de vida (atividade física, tabagismo, etilismo), quantificação da ingestão de cálcio, peso e altura, estratificação de risco de fratura pelo FRAX/NOGG e história familiar de fratura de bacia. Exames laboratoriais regulares a serem avaliados e coletados no laboratório assistencial do HC-UFTM: fator reumatóide e autoanticorpos contra peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP), proteína C reativa, uréia e creatinina, fosfatase alcalina - óssea, telopeptídeo C-terminal (CTX), 25-OH- vitamina D e paratormônio. Para a avaliação dos marcadores inflamatório(TNF, IL-6, IL-1, IL-17, IL-23 e TGF-): serão coletados 5 mL de sangue periférico em tubo de coleta com heparina de sódio no momento da inclusão do estudo, em sala de pesquisa adequada. As amostras serão centrifugadas e o soro coletado será armazenado a -80°C até a realização dos testes que serão realizados no laboratório do IPON. A densidade mineral óssea será avaliada por meio de densitometria óssea a ser realizada nos sítios habituais (quadril e coluna lombar) e avaliação da densidade das mãos, será solicitada no momento da inclusão do participante no estudo e realizada após prévio agendamento em aparelho específico para densitometria óssea do HC-UFTM. Os dados clínicos e demográficos serão coletados e armazenados em planilha Excel específica. Posteriormente os dados serão transportados para o software Jamovi. Os participantes serão alocados em grupos conforme sua terapêutica para AR, mas será realizada a técnica de correspondência de propensão (propensity score-matched analysis) para cada participante por

Endereço: R. Benjamin Constant, 16

Bairro: Nossa Srª da Abadia

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5319

CEP: 38.025-470

E-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
TRIÂNGULO MINEIRO -  
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 4.856.250

meio de regressão logística. Os participantes serão comparados em uma propensão de 1:2 (DMARD bio: DMARDsc). As variáveis contínuas serão analisadas com teste T para amostras independentes ou Mann-Whitney. As variáveis categóricas serão avaliadas pelo teste qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher. A significância estatística foi considerada para um teste bilateral com  $p < 0,05$ . O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será impresso e explicado ao paciente elegível ao estudo. As explicações serão adequadas ao nível de compreensão de cada um, oferecendo tempo para posterior leitura e novos esclarecimentos caso seja requisitado pelo mesmo. Após a assinatura pelo participante e pelo pesquisador, será entregue uma cópia do TCLE ao participante e outra cópia será arquivada pelo período de 5 anos. Critérios para suspender ou encerrar a pesquisa: não se aplicam pois não haverá intervenção. O estudo requer pacientes que já estão em acompanhamento regular no ambulatório de Reumatologia, sendo habitualmente avaliados pela pesquisadora responsável e toda a equipe. O laboratório assistencial do HC-UFTM e o setor de Radiologia e Diagnóstico por Imagem realizam de forma rotineira todos os exames elencados no projeto. O laboratório do IPON disponibiliza o local para acondicionamento correto das amostras de sangue e seus derivados (freezer) bem como materiais de insumo e reagentes para a devida avaliação proposta. Após a conclusão do estudo o mesmo será publicado em revista científica revisada pelos pares e em congresso da especialidade a nível nacional. O Biorepositório será mantido nas instalações do Instituto de Pesquisa em Oncologia (IPON)/UFTM, sob responsabilidade da Profa. Dra. Márcia A. Michelin. Todos os materiais biológicos humanos, serão armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$  e as informações correspondentes terão garantia de privacidade, sigilo, segurança e integridade dos dados. Os questionários e imagens serão coletados e mantidos para análise, e após a realização da mesma, serão mantidas por período de 5 anos em sigilo, com posterior descarte adequado dos registros físicos (fragmentadoras de papel) e digital (deleção dos arquivos em dispositivos físicos e armazenamento em nuvem). Os exames laboratoriais de rotina clínica (proteína C reativa, uréia e creatinina, fosfatase alcalina - óssea, telopeptídeo C-terminal (CTX), 25-OH- vitamina D e paratormônio) serão executados no laboratório próprio do HC-UFTM, exames realizados de forma rotineira para avaliação da saúde óssea em pacientes portadores de doenças reumatológicas imuno-mediada, fazem parte da rotina de atendimento. O fator reumatóide e auto anticorpos contra peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP) já foram coletados ao diagnóstico, assim não serão novamente coletados. A análise dos marcadores inflamatórios (TNF, IL-6, IL-1, IL-17, IL-23 e TGF- $\beta$ ) serão realizados no laboratório do IPON com reagentes previamente disponíveis, não havendo, assim, custo adicional. A densitometria óssea será executada no aparelho de

Endereço: R. Benjamin Constant, 16

Bairro: Nossa Srª da Abadia

UF: MG

Telefone: (34)3318-5319

Município: UBERABA

CEP: 38.025-470

E-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
TRIÂNGULO MINEIRO -  
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 4.856.250

densitometria do HC-UFTM conforme solicitação e autorização do setor responsável pela Divisão de Diagnóstico e Terapia (DADT), não alterando a rotina habitual do referido setor. A avaliação por densitometria óssea faz parte da avaliação rotineira dos pacientes com artrite reumatóide, tendo em vista o risco para osteoporose secundária e osteoporose induzida por glucocorticóides. Demais custos serão arcados pelo pesquisador responsável.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos de apresentação obrigatória foram apresentados adequadamente.

**Recomendações:**

Não se aplica.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 e norma operacional 001/2013, o colegiado do CEP-HC/UFTM manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto, situação definida em reunião do dia 15/07/2021.

O CEP-HC/UFTM não se responsabiliza pela qualidade metodológica dos projetos analisados, mas apenas pelos pontos que influenciam ou interferem no bem-estar dos participantes da pesquisa conforme preconiza as normas da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

A aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFTM dá-se em decorrência do atendimento à Resolução CNS 466/12 e norma operacional 001/2013, não implicando na qualidade científica do mesmo.

Conforme prevê a legislação, são responsabilidades, indelegáveis e indeclináveis, do pesquisador responsável, dentre outras: comunicar o início da pesquisa ao CEP; elaborar e apresentar os relatórios parciais (semestralmente), assim como também é obrigatória, a apresentação do relatório final, quando do término do estudo. Para isso deverá ser utilizada a opção 'notificação' disponível na Plataforma Brasil.

**Obs:**

- O acompanhamento dos projetos na Plataforma Brasil é de inteira responsabilidade dos pesquisadores, não podendo ser alegado desconhecimento de pendências como justificativa para não cumprimento de prazos.
- A secretaria do CEP-HC/UFTM está à disposição para quaisquer esclarecimentos sobre trâmites e

Endereço: R. Benjamin Constant, 16

Bairro: Nossa Srª da Abadia

CEP: 38.025-470

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5319

E-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
TRIÂNGULO MINEIRO -  
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 4.856.250

funcionalidades da Plataforma Brasil, durante os dias de segunda a sexta-feira, das 07:00 às 16:00 hrs.  
Telefone: 34 3318-5319. e-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br.

**INFORMAÇÃO POR OCASIÃO DO COVID-19**

**IMPORTANTE:** Considerando a Declaração de Emergência em Saúde Pública de Importância Internacional pela Organização Mundial da Saúde em 30 de janeiro de 2020, em decorrência da Infecção Humana pelo novo coronavírus (COVID-19); a Portaria nº 188/GM/MS, de 4 de fevereiro de 2020, que Declara Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN), em decorrência da Infecção Humana pelo novo coronavírus (2019-nCoV), as estratégias divulgadas pelo governo federal para a contenção da doença em âmbito nacional, incluindo as medidas de caráter temporário visando reduzir a exposição pessoal e interações presenciais entre as pessoas, o CEP/HC/UFTM recomenda que os projetos de pesquisa relacionados ou não ao COVID-19, iniciem e/ou continuem suas atividades de coleta de dados primários e/ou intervenções **SOMENTE** após seguirem as recomendações que preservem o isolamento social, especialmente dos grupos de risco, e contenção da doença. Orientamos aos pesquisadores frente aos prazos previstos no projeto que o cronograma seja readequado e enviado ao CEP quando do início do projeto.

**OBS:** Considerando o Ofício - SEI nº 11/2021/GEP/HC-UFTM-EBSERH de 09 de Fevereiro de 2021, que trata do processo de autorização de projetos de pesquisa a serem desenvolvidos no âmbito do HC-UFTM, o pesquisador responsável deve atentar e seguir as seguintes orientações:

• Devido à situação de retomada gradual e as características dos diversos locais de atendimento, as atividades de pesquisa no complexo HC-UFTM preferencialmente não deverão ser realizadas por pesquisadores externos ao campo de trabalho, sendo que:

o Quando da necessidade de autorização para participação de pesquisadores externos ao campo de trabalho, a mesma deverá ser concedida pela Chefia do Setor ou Unidade assistencial que constitui campo de prática na pesquisa.

o O número de pesquisadores em atividades no HC-UFTM deverá ser o mínimo requerido para a condução do estudo.

o Os pesquisadores deverão fazer uso dos Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) requeridos pelo campo de prática, sendo recomendado o uso da máscara cirúrgica e da "protetor facial / face shield" na condução de entrevistas.

o Os EPIs não serão disponibilizados pelo HC-UFTM

Outras informações e/ou orientações podem ser obtidas na Gerência de Ensino e Pesquisa (GEP-HC-UFTM) no telefone (034) 3318-5527 Das 8h às 17h, segunda a sexta-feira ou pelo e-mail:

Endereço: R. Benjamin Constant, 16

Bairro: Nossa Srª da Abadia

UF: MG Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5319

CEP: 38.025-470

E-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
TRIÂNGULO MINEIRO -  
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 4.856.250

gep.hctm@ebserh.gov.br .

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1704513.pdf	11/06/2021 12:57:09		Aceito
Outros	respostas_cep.docx	11/06/2021 12:56:42	GABRIELLA STEFENONI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	11/06/2021 12:50:12	GABRIELLA STEFENONI KRUGER	Aceito
Orçamento	orcamento.docx	11/06/2021 12:50:03	GABRIELLA STEFENONI	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	11/06/2021 12:49:51	GABRIELLA STEFENONI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Modelo_Projeto_Pesquisa.docx	11/06/2021 12:49:28	GABRIELLA STEFENONI KRUGER	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_assinada.docx	23/04/2021 16:57:47	GABRIELLA STEFENONI	Aceito
Outros	NEP.pdf	20/03/2021 17:08:06	GABRIELLA STEFENONI	Aceito
Outros	termo_de_ciencia.pdf	20/03/2021 17:06:49	GABRIELLA STEFENONI	Aceito
Outros	CHECK_LIST_Projeto_Pesquisa.pdf	20/03/2021 17:05:41	GABRIELLA STEFENONI	Aceito
Outros	CHECK_LIST_Documental.pdf	20/03/2021 17:04:00	GABRIELLA STEFENONI	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Decl_InfraEstrutura_Instituicao.pdf	01/03/2021 15:12:21	GABRIELLA STEFENONI KRUGER	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TERMO_COMPROMISSO_PESQUISA_DOR.pdf	01/03/2021 15:09:23	GABRIELLA STEFENONI	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: R. Benjamin Constant, 16  
 Bairro: Nossa Srª da Abadia CEP: 38.025-470  
 UF: MG Município: UBERABA  
 Telefone: (34)3318-5319 E-mail: gep.hctm@ebserh.gov.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
TRIÂNGULO MINEIRO -  
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 4.856.250

UBERABA, 19 de Julho de 2021

---

Assinado por:  
GILBERTO DE ARAUJO PEREIRA  
(Coordenador(a))

## ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



HOSPITAL DE CLÍNICAS - UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

Endereço: R. Frei Paulino, s/n - Nossa Sra. da Abadia, Uberaba - MG, 38025-440

Fone: (34) 3700-5598 E-mail: reumatologia.hcuftm@gmail.com

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “*Osteoimunologia na Artrite Reumatóide: comparação entre terapias convencionais e biológicos.*”, coordenado por mim, Gabriella Stefenoni Krüger, médica e professora da disciplina de Reumatologia, mestranda no programa de Pós-Graduação de Ciências da Saúde. O objetivo dessa pesquisa é: “avaliar se existem diferenças entre as proteínas inflamatórias no sangue e a qualidade do osso dos pacientes com artrite reumatóide, conforme seu tratamento medicamentoso.”

Gostaria de contar com sua participação, por ter diagnóstico de Artrite Reumatóide e estar em acompanhamento regular da referida doença. O tratamento da artrite reumatóide vem mudando ao longo dos anos, com melhora dos sintomas de forma expressiva. No entanto, sabemos que pacientes com artrite reumatóide têm densidade óssea inferior àqueles sem a doença. Assim, correlacionar o tipo de tratamento, o nível de inflamação (citocinas no sangue) e a densidade do osso (pela densitometria óssea), pode permitir a redução na incidência da osteoporose e sua principal complicação, a fratura óssea.

Caso aceite participar dessa pesquisa será necessário realizar a coleta de uma amostra de sangue (5 mL), em local adequado no ambulatório Maria da Glória para esses fins, por membro da equipe da pesquisa devidamente capacitado, com tempo estimado de 10 minutos, na data da sua consulta habitual. Além disso será solicitado o exame de imagem “densitometria óssea” a ser realizado no setor de do HC-UFTM em data agendada pelos pesquisadores, conforme disponibilidade.

O risco previsto de sua participação nessa pesquisa é a quebra de sigilo de dados dos participantes. Como medidas para minimizar estes riscos serão tomadas as seguintes providências será atribuído um número para cada participante e o uso de siglas quando for necessário.

Como benefício direto de sua participação na pesquisa espera-se uma avaliação minuciosa da saúde óssea, permitindo um diagnóstico mais acurado e precoce do seu metabolismo ósseo permitindo, se necessário, intervenção clínica.

Sua participação é voluntária, e em decorrência dela você não receberá qualquer valor em dinheiro. Você não terá nenhum gasto por participar nesse estudo, pois qualquer gasto que você tenha por causa dessa pesquisa lhe será ressarcido.

DATA	RUBRICA DO PARTICIPANTE	RUBRICA DO PESQUISADOR



**HOSPITAL DE CLÍNICAS- UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO**

Endereço: R. Frei Paulino, s/n - Nossa Sra. da Abadia, Uberaba - MG, 38025-440

Fone: (34) 3700-5598 E-mail: reumatologia.hcufm@gmail.com

Você pode recusar a participar do estudo, ou se retirar a qualquer momento, sem que haja qualquer prejuízo quanto ao atendimento clínico habitual em ambulatório de reumatologia, para isso basta dizer ao pesquisador que lhe entregou este documento. Em qualquer momento, você pode obter quaisquer informações sobre a sua participação nesta pesquisa, diretamente com os pesquisadores ou por contato com o CEP/HC-UFTM.

Sua identidade não será revelada para ninguém, ela será de conhecimento somente dos pesquisadores da pesquisa, seus dados serão publicados em conjunto sem o risco de você ser identificado, mantendo o seu sigilo e privacidade. Você tem direito a requerer indenização diante de eventuais danos que você sofra em decorrência dessa pesquisa.

Os dados obtidos de você dados do prontuário e exame de imagem (densitometria óssea) serão utilizados somente para os objetivos dessa pesquisa e serão destruídos ou descartado de acordo com as normas vigentes após cinco anos do fim da pesquisa. A amostra de sangue (material biológico) será destinada somente ao presente estudo, não sendo armazenado após a avaliação, com descarte apropriado. Caso haja interesse, por parte dos pesquisadores, em utilizar seus dados em outro projeto de pesquisa, você será novamente contactado para decidir se participa ou não dessa nova pesquisa e se concordar deve assinar novo TCLE.

**Contato**

Nome: Dr<sup>a</sup> Gabriella Stefenoni Krüger

E-mail: [gabriella.kruger@uftm.edu.br](mailto:gabriella.kruger@uftm.edu.br)

Telefone: 34 3700-5598

Endereço: R. Frei Paulino, s/n - Nossa Sra. da Abadia, Uberaba - MG, 38025-450

\*Dúvidas ou denúncia em relação a esta pesquisa, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (CEP/HC-UFTM), pelo e-mail: [cep.hctm@ebserh.gov.br](mailto:cep.hctm@ebserh.gov.br), pelo telefone (34) 3318-5319, ou diretamente no endereço Rua Benjamim Constant, 16, Bairro Nossa Senhora da Abadia – Uberaba – MG – de segunda a sexta-feira, das 07h às 12h e das 13h às 16h.

DATA	RUBRICA DO PARTICIPANTE	RUBRICA DO PESQUISADOR



**HOSPITAL DE CLINICAS- UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIANGULO MINEIRO**

Endereço: R. Frei Paulino, s/n - Nossa Sra. da Abadia, Uberaba - MG, 38025-440

Fone: (34) 3700-5598 E-mail: reumatologia.hcufm@gmail.com

Eu, \_\_\_\_\_, li e/ou ouvi o esclarecimento acima referente a pesquisa “*Osteoimunologia na Artrite Reumatóide: comparação entre terapias convencionais e biológicos.*”, ”, coordenado por mim, Gabriella Stefenoni Krüger, médica e professora da disciplina de Reumatologia, mestranda no programa de Pós-Graduação de Ciências da Saúde. Compreendi para que serve a pesquisa e quais procedimentos serei submetido. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios da pesquisa. Entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão e que isso não afetará o atendimento clínico Reumatológico habitual que estou recebendo. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro para participar da pesquisa. Concordo em participar da pesquisa e receberei uma via assinada deste documento.

Uberaba, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
/\_\_\_\_\_  
NOME/ ASSINATURA DO VOLUNTÁRIO e/ou RESPONSÁVEL LEGAL

\_\_\_\_\_  
Gabriella Stefenoni Krüger – (34) 3700-5598

PESQUISADOR RESPONSÁVEL

DATA	RUBRICA DO PARTICIPANTE	RUBRICA DO PESQUISADOR

## ANEXO C – Cálculo da ingestão de cálcio diário da “International Osteoporosis Foundation”

Fonte: < [https://www.osteoporosis.foundation/educational-hub/topic/calcium-calculator?utm\\_source=Enigma&utm\\_medium=cpc&gclid=Cj0KCQjwqoibBhDUARIsAH2OpWisyoF4RLsh5oAMpSnI07xV-0wX4DyO04Fk5A15B-88y9H7yTyrnwcaAnWoEALw\\_wcB](https://www.osteoporosis.foundation/educational-hub/topic/calcium-calculator?utm_source=Enigma&utm_medium=cpc&gclid=Cj0KCQjwqoibBhDUARIsAH2OpWisyoF4RLsh5oAMpSnI07xV-0wX4DyO04Fk5A15B-88y9H7yTyrnwcaAnWoEALw_wcB) >


Home / Educational Hub / CALCIUM - Calcium Calculator

f t in @
DONATE

**Qual é o seu consumo habitual de cálcio durante uma semana?**

Por favor, marque na lista abaixo os tipos e quantidade de alimentos que você ingere durante uma semana normal para calcular o seu consumo diário aproximado de cálcio.

ALIMENTO	TAMANHO DA PORÇÃO	QUANTIDADE DE CÁLCIO POR PORÇÃO	NÚMERO DE PORÇÕES POR SEMANA
<b>SUPLEMENTOS</b>			
Cálcio	500 mg	500 mg	<input type="text"/>
<b>LEITE</b>			
Leite	200 mL	240 mg	<input type="text"/>
Milkshake	300 mL	360 mg	<input type="text"/>
Leite de Cabra	200 mL	380 mg	<input type="text"/>
Leite de Coco	200 mL	54 mg	<input type="text"/>
Leite de Soja (enriquecido)	200 mL	240 mg	<input type="text"/>
Leite de Soja	200 mL	26 mg	<input type="text"/>
Leite de Arroz	200 mL	22 mg	<input type="text"/>
Leite de Aveia	200 mL	16 mg	<input type="text"/>
Leite de Amêndoa	200 mL	90 mg	<input type="text"/>
<b>IOGURTE</b>			
iogurte com sabor	150 g	197 mg	<input type="text"/>
iogurte com pedaços de frutas	150 g	169 mg	<input type="text"/>
iogurte natural	150 g	207 mg	<input type="text"/>
<b>QUEIJO</b>			
Queijo firme (ex. Minas, Prato, Parmesão)	30 g	240 mg	<input type="text"/>
Queijo macio (ex. Camembert, Brie)	60 g	240 mg	<input type="text"/>
Queijo Feta	60 g	270 mg	<input type="text"/>
Mussarela	60 g	242 mg	<input type="text"/>
Queijo fresco (ex. cottage, ricota, frescal)	200 g	138 mg	<input type="text"/>
Queijo cremoso (ex. requeijão, cream cheese)	30 g	180 mg	<input type="text"/>
<b>CREME, SOBREMESA</b>			
Creme de leite batido	30 mL	21 mg	<input type="text"/>
Creme de leite integral	30 mL	21 mg	<input type="text"/>
Pavê de Leite, Baunilha	120 g	111 mg	<input type="text"/>
Sorvete de Baunilha	100 g	124 mg	<input type="text"/>
Pudim	120 g	120 mg	<input type="text"/>
Pudim de Arroz	200 g	210 mg	<input type="text"/>
Panqueca	80 g	62 mg	<input type="text"/>
Cheese cake	200 g	130 mg	<input type="text"/>
Waffle	80 g	47 mg	<input type="text"/>

**CARNE, PEIXE E OVOS**

Ovo	50 g	27 mg	<input type="text"/>
Carne Vermelha	120 g	7 mg	<input type="text"/>
Frango	120 g	17 mg	<input type="text"/>
Peixe (ex. Bacalhau, Truta, Arenque, Pescada, Tainha)	120 g	20 mg	<input type="text"/>
Atum (enlatado)	120 g	34 mg	<input type="text"/>
Sardinhas em óleo (enlatadas)	60 g	240 mg	<input type="text"/>
Salmão Defumado	60 g	9 mg	<input type="text"/>
Camarão	150 g	45 mg	<input type="text"/>

**FEIJÕES E LENTILHAS**

Lentilhas	80 g cru, 200 g cozida	40 mg	<input type="text"/>
Grão de Bico	80 g cru, 200 g cozido	99 mg	<input type="text"/>
Feijão Branco	80 g cru, 200 g cozido	132 mg	<input type="text"/>
Feijões (ex. Preto e Cariquinha)	80 g cru, 200 g cozido	93 mg	<input type="text"/>

**ALIMENTOS COM AMIDO**

Massa (cozida)	180 g	26 mg	<input type="text"/>
Arroz (cozido)	180 g	4 mg	<input type="text"/>
Batatas (cozidas)	240 g	14 mg	<input type="text"/>
Pão Branco (1 fatia)	40 g	6 mg	<input type="text"/>
Pão Integral (1 fatia)	40 g	12 mg	<input type="text"/>
Cereais	50 g	21 mg	<input type="text"/>

**FRUTAS**

Laranja	150 g	60 mg	<input type="text"/>
Maçã	120 g	6 mg	<input type="text"/>
Banana	150 g	12 mg	<input type="text"/>
Damasco (3 unidades)	120 g	19 mg	<input type="text"/>
Groselha (fruta)	120 g	72 mg	<input type="text"/>
Figo desidratado	60 g	96 mg	<input type="text"/>
Passas	40 g	31 mg	<input type="text"/>

**VEGETAIS**

Alface	50 g	19 mg	<input type="text"/>
Couve	50 g cru	32 mg	<input type="text"/>
Couve flor	50 g cru	20 mg	<input type="text"/>
Brocólis	120 g cru	112 mg	<input type="text"/>
Quiabo	120 g cru	77 mg	<input type="text"/>
Agrião	120 g	188 mg	<input type="text"/>
Ruibarbo	120 g cru	103 mg	<input type="text"/>
Cenoura	120 g cru	36 mg	<input type="text"/>
Tomate	120 g cru	11 mg	<input type="text"/>

**SEMENTES E AMÊNDOAS**

Amêndoa	30 g	75 mg	<input type="text" value=""/>
Nozes	30 g	28 mg	<input type="text" value=""/>
Avelãs	30 g	56 mg	<input type="text" value=""/>
Castanha-do-Pará	30 g	53 mg	<input type="text" value=""/>
Gergelim	15 g	6 mg	<input type="text" value=""/>
Pasta de Grão de Bico	30 g	42 mg	<input type="text" value=""/>

**ALIMENTOS PROCESSADOS**

Quiche (queijo, ovo)	200 g	212 mg	<input type="text" value=""/>
Omelete com queijo	120 g	235 mg	<input type="text" value=""/>
Massa com queijo	330 g	445 mg	<input type="text" value=""/>
Pizza	300 g	378 mg	<input type="text" value=""/>
Lasanha	300 g	228 mg	<input type="text" value=""/>
Cheeseburger	200 g	183 mg	<input type="text" value=""/>

**OUTROS**

Tofu	120 g	126 mg	<input type="text" value=""/>
Algas Marinhas	100 g	70 mg	<input type="text" value=""/>
Wakame	100 g	150 mg	<input type="text" value=""/>

**CALCULAR INGESTÃO DE CÁLCIO**

## ANEXO D – Instrumento de coleta de dados

**TÍTULO DO PROJETO:** “*Osteoimunologia na Artrite Reumatóide: comparação entre terapias convencionais e biológicos.*”

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Gabriella Stefenoni Krüger

### REVISÃO DE PRONTUÁRIO

Nº: \_\_\_\_\_ DATA DE NASCIMENTO: \_\_\_\_\_

SEXO: \_\_\_\_\_ COR PELE (AUTODECLARADO): \_\_\_\_\_

PESO: \_\_\_\_\_ ALTURA: \_\_\_\_\_ CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL: \_\_\_\_\_

- COMORBIDADES:
- DADOS ARTRITE REUMATÓIDE
  - DATA DIAGNÓSTICO:
  - FATOR REUMATÓIDE: \_\_\_\_\_ ANTI-CCP: \_\_\_\_\_
  - EXAMES COMPLETMENTARES – DATA:
    - Proteína C reativa:
    - Uréia:
    - Creatinina:
    - Fosfatase alcalina – óssea:
    - Telopeptídeo C-terminal (CTX):
    - 25-OH- vitamina D:
    - Paratormônio:
  - DAS 28: (PCR) \_\_\_\_\_ (VHS)
  - HAQ: \_\_\_\_\_
  - TRATAMENTO ATUAL:
  - TRATAMENTO PRÉVIO:
  - CORTICÓIDE – TEMPO DE USO E DOSE:
- DADOS OSTEOPOROSE
  - DIAGNÓSTICO DE OSTEOPOROSE / BAIXA DENSIDADE ÓSSEA PARA A IDADE (DENSITOMÉTRICO)? SIM / NÃO
    - FAZ TRATAMENTO / PROFILAXIA? SIM / NÃO
    - QUAL (IS) MEDICAÇÃO (ÕES)?
  - Quedas e fraturas prévias:
  - História ginecológica e obstétrica:
  - Hábitos de vida (atividade física, tabagismo, etilismo):
  - Quantificação da ingesta de cálcio:  
([https://www.osteoporosis.foundation/educational-hub/topic/calcium-calculator?utm\\_source=Enigma&utm\\_medium=cpc&gclid=Cj0KCQjwqoibBhDUARIsAH2OpWisyoF4RLsh5oaMpSnl07xV-0wX4DyO04Fk5A15B-88y9H7yTyrnwcaAnWoEALw\\_wcB](https://www.osteoporosis.foundation/educational-hub/topic/calcium-calculator?utm_source=Enigma&utm_medium=cpc&gclid=Cj0KCQjwqoibBhDUARIsAH2OpWisyoF4RLsh5oaMpSnl07xV-0wX4DyO04Fk5A15B-88y9H7yTyrnwcaAnWoEALw_wcB))
  - Estratificação de risco de fratura pelo FRAX/NOGG e história familiar de fratura de bacia:  
(<https://abrasso.org.br/calculadora/calculadora/>)
- DENSITOMETRIA ÓSSEA: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_\_\_\_

SÍTIO	BMD	T-SCORE	Z-SCORE
COLUNA LOMBAR			
FÊMUR TOTAL			
COLO FEMORAL			
MÃOS / PUNHOS			

- LABORATÓRIO:
- DATA DA COLETA: \_\_\_\_\_ HORA: \_\_\_\_\_
- DATA REALIZAÇÃO DO EXAME LABORATORIAL: \_\_\_\_\_
- TNF $\alpha$ : \_\_\_\_\_
- IL-6: \_\_\_\_\_

## ANEXO E – Confirmação de submissão do artigo



GABRIELLA STEFENONI KRUGER <gabriella.kruger@uftm.edu.br>

---

### OSIN-D-22-01294 - Submission Confirmation

1 mensagem

**OSIN- Editorial Office** <em@editorialmanager.com>

14 de dezembro de 2022 07:54

Responder a: OSIN- Editorial Office <sarahjane.villaor@springernature.com>

Para: Gabriella Stefenoni Krüger <gabriella.kruger@uftm.edu.br>

Dear Mrs. Krüger,

Thank you for submitting your manuscript,  
"Osteoimmunology in rheumatoid arthritis: a comparison between conventional therapies and biologics", to  
Osteoporosis International

The submission id is: OSIN-D-22-01294  
Please refer to this number in any future correspondence.

This is an automatic message acknowledging online submission.

Your manuscript has been sent to the Editor-In-Chief selected for preliminary review. Some manuscripts are returned to the authors after a careful internal review by one or more editors, but without external review. The decision to return a manuscript without external review will be made as expeditiously as possible.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing our web site:

Your username is: Gabriella Krüger  
If you forgot your password, you can click the 'Send Login Details' link on the EM Login page at  
<https://www.editorialmanager.com/osin/>.

With kind regards,

Journals Editorial Office OSIN  
Springer

This letter contains confidential information, is for your own use, and should not be forwarded to third parties.

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at <https://www.springernature.com/production-privacy-policy>. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding database management, please contact the Publication Office at the link below.

---

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/osin/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

**Osteoporosis International**  
**Osteoimmunology in rheumatoid arthritis: a comparison between conventional therapies and biologics**  
 --Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Full Title:</b>	Osteoimmunology in rheumatoid arthritis: a comparison between conventional therapies and biologics
<b>Article Type:</b>	Original Article
<b>Funding Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	<p><b>Purpose</b> Rheumatoid arthritis is an immune-mediated disease that affects the peripheral joints and is characterized by chronic systemic inflammation with systemic bone mineral density loss. Susceptibility to osteoporosis occurs due to systemic inflammation, as well as chronic corticosteroid use. The biologic and target-specific disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) act effectively blocking systemic inflammation. We hypothesized that patients receiving biologic and target-specific DMARDs have higher bone mineral density, exhibit lower serum pro-inflammatory cytokine levels, and require lower corticosteroid doses than those receiving conventional therapy.</p> <p><b>Methods</b> To test this hypothesis, we conducted a quantitative, descriptive, observational, cross-sectional and prospective clinical trial by collecting data from eligible patients. The participants were divided into three groups according to DMARD class (conventional synthetic, biologic, and target-specific DMARDs). The main inflammatory mediators of osteoporosis secondary to rheumatoid arthritis (tumor necrosis factor-<math>\alpha</math>, interleukin-6), Disease Activity Score in 28 Joints, calculated using C-reactive protein, bone mineral density, bone turnover biomarker C-terminal telopeptide, and glucocorticoid dose were assessed in the three groups. Analysis of variance and Pearson product-moment correlation coefficient were used to compare the results among groups.</p>

	<p>Results TNF-<math>\alpha</math> and IL-6 levels did not show significant correlation with any variable, such as DAS28-CRP, CTX, and bone mineral density of the lumbar spine, total femur, and femoral neck. The prednisone dose was significantly positively correlated with CTX and DAS28-CRP.</p> <p><b>Conclusion</b> Among patients with Rheumatoid arthritis treatment with any disease-modifying antirheumatic drugs achieving low disease activity or remission decrease circulating cytokine levels and low bone resorption.</p> <p><b>Keywords</b> Rheumatoid arthritis, Osteoporosis, Cytokines, Antirheumatic agents, Tumor necrosis factor inhibitors</p>
<b>Corresponding Author:</b>	Gabriella Stefenoni Krüger, M.D. Federal University of Mineiro Triangle: Universidade Federal do Triangulo Mineiro Uberaba, MG BRAZIL
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	Federal University of Mineiro Triangle: Universidade Federal do Triangulo Mineiro
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Gabriella Stefenoni Krüger, M.D.
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	<p>Gabriella Stefenoni Krüger, M.D.</p> <p>Márcia Antoniazzi Michelin, Ph.D.</p> <p>Reginaldo Botelho Teodoro, M.D.</p> <p>Cláudio José Silva, B.Sc</p>
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	

## ANEXO F – Artigo Científico

### **Osteoimmunology in rheumatoid arthritis: a comparison between conventional therapies and biologics**

Gabriella Stefenoni Krüger<sup>1\*</sup>, Cláudio José Silva<sup>2</sup>, Reginado Botelho Teodoro<sup>3</sup>, Márcia Antoniazi Michelin<sup>4</sup>

<sup>1\*</sup>Professor of Rheumatology, Federal University of Triângulo Mineiro (*Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM*), Master's student in the Graduate Program in Health Sciences at UFTM, Uberaba, Brazil. E-mail: gabriella.kruger@uftm.edu.br; ORCID: 0000-0002-3514-2864

<sup>2</sup>Master's student in the Graduate Program in Health Sciences at UFTM, Uberaba, Brazil. E-mail: claudio.silva@uftm.edu.br

<sup>3</sup>Professor of Rheumatology, Federal University of Triângulo Mineiro (*Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM*), Uberaba, Brazil. E-mail:reginaldo.teodoro@uftm.edu.br.

<sup>4</sup> Professor of Immunology, UFTM, Coordinator of the Oncology Research Institute (*Instituto de Pesquisa em Oncologia – IPON-UFTM*), Uberaba, Brazil. E-mail: marcia.michelin@uftm.edu.br; ORCID: 0000-0003-0842-8805

**Word count (main body of the article):** 2,466 words

**Total number of tables and figures:** 5 (3 tables and 2 figures)

**Total number of references:** 30

#### **Abstract**

**Background** Rheumatoid arthritis is an immune-mediated disease that affects the peripheral joints and is characterized by chronic systemic inflammation with systemic bone mineral density loss. Susceptibility to osteoporosis occurs due to systemic inflammation, as well as chronic corticosteroid use. The biologic and target-specific disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) act effectively blocking systemic inflammation. We hypothesized that patients receiving biologic and target-specific DMARDs have higher bone mineral density, exhibit lower serum pro-inflammatory cytokine levels, and require lower corticosteroid doses than those receiving conventional therapy.

**Methods** To test this hypothesis, we conducted a quantitative, descriptive, observational, cross-sectional and prospective clinical trial by collecting data from eligible patients. The participants were divided into three groups according to DMARD class (conventional synthetic, biologic, and target-specific DMARDs). The main inflammatory mediators of osteoporosis secondary to rheumatoid arthritis (tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-6), Disease Activity Score in 28 Joints, calculated using C-reactive protein, bone mineral density, bone turnover biomarker C-terminal telopeptide, and glucocorticoid dose were assessed in the three groups. Analysis of variance and Pearson product-moment correlation coefficient were used to compare the results among groups. Trial

Registration Number - Certificate of Presentation for Ethical Consideration (CAAE): 46069821.4.0000.8667, 07/15/2021.

**Results** TNF- $\alpha$  and IL-6 levels did not show significant correlation with any variable, such as DAS28-CRP, CTX, and bone mineral density of the lumbar spine, total femur, and femoral neck. The prednisone dose was significantly positively correlated with CTX and DAS28-CRP.

**Conclusion** Among patients with Rheumatoid arthritis treatment with any disease-modifying antirheumatic drugs achieving low disease activity or remission decrease circulating cytokine levels and low bone resorption.

**Keywords** Rheumatoid arthritis, Osteoporosis, Cytokines, Antirheumatic agents, Tumor necrosis factor inhibitors

## **Background**

Osteoporosis is a disease characterized by a reduction in bone mineral density (BMD) with thinning and discontinuation of the bone trabeculae and cortical bone trabeculation (i.e., changes in the microarchitecture) [1], which increase bone fragility and fracture risk [2, 3]. Research over recent decades has shown the complex interaction between bone tissues and inflammatory diseases [4]; osteoimmunology refers to the field of study that identifies this interaction [3–8]. Rheumatoid arthritis (RA) is an immune disease that primarily affects the peripheral joints. Patients with RA present with infiltration of inflammatory cells (e.g., macrophages, neutrophils, T-helper 17 cells) into the synovium, hyperactivation of synovial fibroblasts [5, 9, 10], and chronic systemic inflammation marked by elevated levels of pro-inflammatory cytokines, such as tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6). These factors stimulate osteoclastogenesis via the receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B (RANK)–RANK ligand–osteoprotegerin pathway or via a direct action on osteoclasts [5]. Osteoclastic activation results in periarticular bone destruction, which is clinically observed as cysts and bone erosions on radiographs, in addition to a reduction in juxta-articular and systemic BMD [3, 4, 6, 11].

In patients with RA, the treat-to-target strategy [12] employed by rheumatologists to lower the disease activity and, if possible, achieve clinical remission leads to progressive stabilization or even bone mass gain, with good overall outcomes [4, 6, 13–15]. The biologic disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) act by inhibiting proinflammatory cytokines or inhibiting innate immune cells, thus effectively blocking systemic inflammation. Besides target-specific DMARDs inhibit intracellular Janus-kinase communication pathways, reducing the release of proinflammatory cytokines. We hypothesized that patients taking biologic or target-specific disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) exhibit higher BMD, show lower serum pro-inflammatory cytokine levels, and require lower corticosteroid doses than those taking conventional synthetic DMARDs. In this context, we conducted a bone evaluation study on patients diagnosed with RA who were followed up at the rheumatology outpatient clinic to identify differences in bone profiles between different current treatments for this disease based on the overall outcome.

## **Methods**

For this observational, cross-sectional study, we collected data from eligible patients recruited between October 2021 and May 2022, totaling to 35 individuals. The participants were divided into groups according to background

therapy (conventional synthetic, biologic, or target-specific DMARDs). The study population comprised patients with RA diagnosed based on the 1987 American College of Rheumatology and/or 2010 American College of Rheumatology/European League against Rheumatism criteria for RA classification [16] who were receiving continuous treatment for more than 6 months and who were 20–60 years of age. Patients with suspected or confirmed cancer within the last 5 years, patients with active viral or bacterial infection at the time of consultation, menopausal women who were not currently and regularly receiving hormone replacement therapy, and patients who refused to participate were excluded from analysis.

The following data was collected by anamnesis and review of medical records: age, sex, skin color (self-reported), time of RA diagnosis, medications in use (DMARD class, corticoids, and current dose), Disease Activity Score in 28 Joints (DAS28) calculated using the erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP), comorbidities, prior fractures, lifestyle habits (physical activity, tobacco smoking, alcohol consumption), calcium intake quantification, weight and height (body mass index), and fracture risk stratification using the Fracture Risk Assessment (FRAX)/National Osteoporosis Guideline Group (NOGG) tool [17, 18]. Blood work was requested prior to the study and performed at the clinical pathology laboratory of HC-UFTM for the assessment of rheumatoid factor, anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies, CRP, urea, creatinine, C-terminal telopeptide (CTX), calcifediol (25-hydroxyvitamin D), and parathyroid hormone. For the detection of the cytokines TNF- $\alpha$  and IL-6, a blood sample was collected after the patients consented to participate in the study. TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in the serum collected from the patients' peripheral blood were assessed using the enzyme-linked immunosorbent assay and pairs of monoclonal antibodies purchased from BD OptEIA™ (San Diego, CA, United States). BMD was measured by bone densitometry on a bone densitometer (GE Prodigy 2022; Boston, Massachusetts, United States). All patients who participated in this trial signed an informed consent statement form previously approved by the research ethics committee of the Clinic Hospital Federal University of Triângulo Mineiro (Trial Registration Number - Certificate of Presentation for Ethical Consideration [*Certificado de Apresentação de Apreciação Ética* – CAAE]: 46069821.4.0000.8667), 07/15/2021.

Clinical and demographic data were collected, subsequently stored in a spreadsheet, and later transferred to *jamovi* software version 1.2 (The jamovi Project [2020]; <https://www.jamovi.org>) for statistical analysis.

The participants were allocated into groups according to their RA treatment (conventional synthetic, biologic, or target-specific DMARDs). The groups were compared using one-way analysis of variance after testing the assumptions of normality and homogeneity of variance. Additionally, the Pearson product-moment correlation coefficient ( $r$ ) was calculated to assess the intensity and direction of linear relationships. Differences with a probability level of  $p < 0.05$  were considered to be statistically significant.

## Results

A total of 35 patients with RA were included in this study. Of these patients, 18 were on conventional synthetic DMARDs, 12 were receiving biologic DMARDs, and 5 were taking target-specific DMARDs. Table 1 summarizes the general demographic and clinical characteristics of the participants.

**Table 1** Demographic and clinical characteristics of the participants

	<i>N</i>	Mean/standard deviation
Age (years)	35	47.2 ( $\pm$ 9.05)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	35	27.5 ( $\pm$ 6.27)
Female	30 (85.7%)	-
Disease duration (years)	35	8.4 ( $\pm$ 6.67)
DAS28-ESR	35	3.1 ( $\pm$ 1.42)
DAS28-CRP	35	2.6 ( $\pm$ 1.30)
CTX (ng/mL)	35	0.424 ( $\pm$ 0.231)
LS BMD	35	1.095 ( $\pm$ 0.181)
FN BMD	34	0.907 ( $\pm$ 0.159)
TF BMD	33	0.911 ( $\pm$ 0.143)
Prednisone dose (mg/day)	35	5.643 ( $\pm$ 5.366)
CRP (mg/dL)	35	0.95 ( $\pm$ 1.1)
DMARD class	Count	Cumulative sum
csDMARD	18	18
tsDMARD	5	23
bDMARD	12	35

BMI body mass index, DAS28 Disease Activity Score in 28 Joints, ESR erythrocyte sedimentation rate, CRP C-reactive protein, CTX C-terminal telopeptide, LS BMD lumbar spine bone mineral density, FN BMD femoral neck BMD, TF BMD total femur BMD, DMARD disease-modifying antirheumatic drug, csDMARD conventional synthetic DMARD, tsDMARD target-specific DMARD, bDMARD biologic DMARD

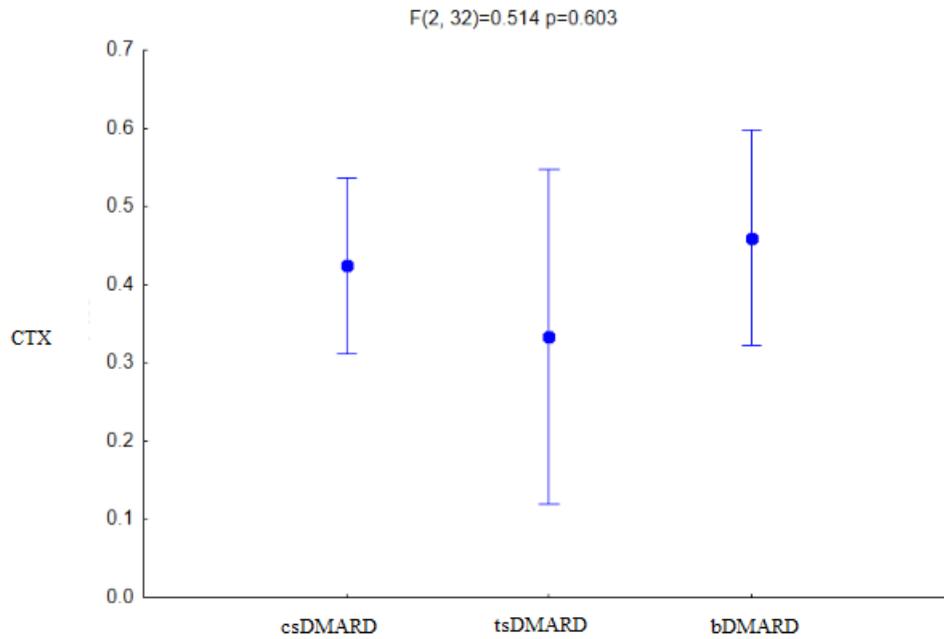
Overall, 77.1% of patients were seropositive for RA, predominantly with high rheumatoid factor titers (45.7%). Serum CRP levels were within the normal range (<0.5 mg/dL) in 65.7% of patients, whereas the remaining 34.3% of patients had serum CRP levels ranging from 0.6 to 5.0 mg/dL. Disease activity was assessed by calculating DAS28-CRP, which indicated that nearly 66% of patients achieved the RA therapeutic target (i.e., remission or low disease activity), 25.7% had moderate disease activity, and 8.6% exhibited high disease activity.

The analysis of corticosteroids showed that 37.2% of patients continuously used a prednisone dose of >5 mg/day. In the evaluation of background therapy for RA, 80% of participants were on methotrexate, which was administered either as monotherapy or in combination with other biologic and/or target-specific DMARDs. Additionally, 5 patients (14.3%) were taking leflunomide. Of all patients, 34.3% (n=12) were on biologic DMARDs. The sample also included 5 patients using Janus kinase inhibitors (3 patients on tofacitinib and 2 patients on baricitinib).

Bone health was assessed using additional risk factors for low bone mass. The results indicated that 75% (n=24) of patients were consuming a calcium-poor diet (daily intake of <800 mg/day). Without entering the BMD data, we used the FRAX/NOGG tool for 32 patients, all of whom being older than 40 years. Of these patients, 63%

were in the yellow zone, with formal indication for bone densitometry; 23% were already in the red zone, with formal indication for osteoporosis treatment; and only 5.7% (n=2) were in the green zone.

As shown in Fig. 1, the comparison of CTX levels between different treatment groups revealed no significant difference ( $p=0.603$ ).



**Fig. 1** Comparison of median CTX levels between the treatment groups. CTX C-terminal telopeptide, DMARD disease-modifying antirheumatic drug, csDMARD conventional synthetic DMARD, tsDMARD target-specific DMARD, bDMARD biologic DMARD

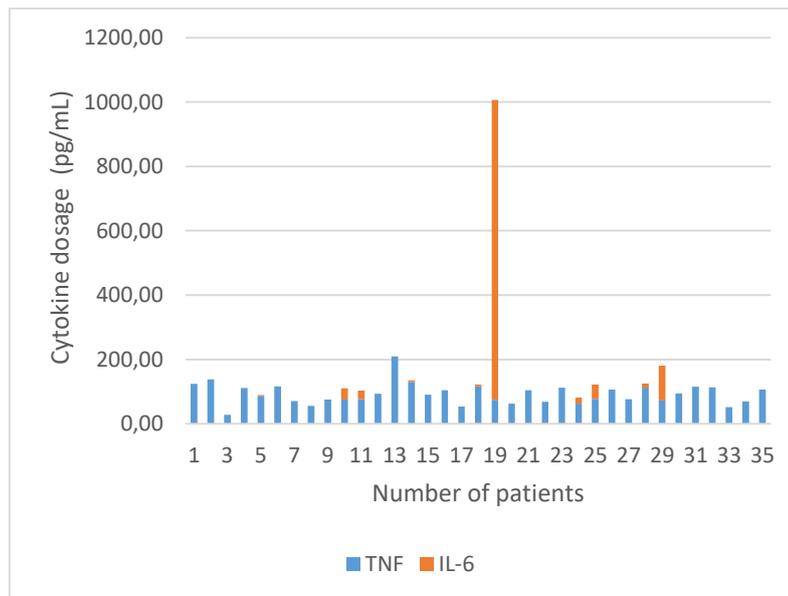
No significant between-group differences were found when assessing BMD by densitometry at three usual sites (Table 2).

**Table 2** Comparison of BMD values between the treatment groups

	Mean Lumbar spine BMD	Standard deviation	Minimum -95.00%	Maximum +95.00%
csDMARD	1.095	0.042	1.007	1.184
tsDMARD	1.197	0.091	0.944	1.451
bDMARD	1.051	0.050	0.940	1.162
	Femoral neck BMD			
csDMARD	0.933	0.047	0.835	1.032
tsDMARD	0.867	0.064	0.688	1.046
bDMARD	0.887	0.032	0.816	0.958
	Total femur BMD			
csDMARD	0.917	0.041	0.829	1.005
tsDMARD	0.898	0.070	0.703	1.093
bDMARD	0.909	0.034	0.835	0.983

BMD bone mineral density, DMARD disease-modifying antirheumatic drug, csDMARD conventional synthetic DMARD, tsDMARD target-specific DMARD, bDMARD biologic DMARD

The two main pro-inflammatory cytokines in RA—namely, TNF- $\alpha$  and IL-6—were analyzed in this study, as shown in Fig. 2. TNF- $\alpha$  was detected in all participants, at an average level of 92.67 pg/mL (standard deviation:  $\pm 32.62$ ); this cytokine was found even in healthy controls, at an average level of 99.43 pg/mL (standard deviation:  $\pm 36.93$ ).

**Fig. 2** Cytokine levels

IL-6 was detected in some patients, at an average level of 34.07 pg/mL (range: 0.0–931.56 pg/mL) in the RA group and 3.12 pg/mL (standard deviation:  $\pm 7.44$ ) in healthy controls. In the RA group, patients on biologic DMARDs had the highest mean IL-6 level at 92.98 pg/mL, whereas those on conventional synthetic DMARDs

had a mean level of 4.26 pg/mL. Analysis of IL-6 levels did not show any significant difference between the groups ( $p=0.286$ ).

We calculated the Pearson product-moment correlation coefficient (Table 3) to assess the correlation with the study variables, particularly in the biologic DMARD group. The cytokine level did not show a correlation with any other study variable; however, the prednisone dose was positively correlated with DAS28-CRP.

**Table 3** Correlation between the variables of interest in the biologic DMARD group

	CT X	LS BM D	FN BM D	TF BM D	TN F- $\alpha$	IL -6	DAS28 -CRP	DAS28 -ESR	Prednisone dose (mg/day)
CTX	1.00	-0.34	-0.43	-0.46	-0.23	0.18	0.33	0.18	0.47
LS BMD	-0.34	1.00	0.89	0.87	0.04	-0.41	-0.29	0.01	0.04
FN BMD	-0.43	0.89	1.00	0.93	0.04	-0.29	-0.49	-0.22	0.00
TF BMD	-0.46	0.87	0.93	1.00	0.12	-0.29	-0.24	0.04	0.15
TNF- $\alpha$	-0.23	0.03	0.04	0.12	1.00	-0.21	0.01	-0.00	-0.32
IL-6	0.18	-0.41	-0.29	-0.29	-0.21	1.00	-0.12	-0.18	0.02
DAS28-CRP	0.33	-0.29	-0.49	-0.24	0.01	-0.12	1.00	0.89	<b>0.61</b>
DAS28-ESR	0.18	0.01	-0.22	0.04	-0.00	-0.18	0.89	1.00	0.54
Prednisone dose (mg/day)	0.47	0.04	0.01	0.15	-0.31	0.02	<b>0.61</b>	0.54	1.00

The values presented above are the Pearson product-moment correlation coefficient ( $r$ ), whereas the values marked in bold indicated  $p < 0.01$

bDMARD biologic disease-modifying antirheumatic drug, CTX C-terminal telopeptide, LS BMD lumbar spine bone mineral density, FN BMD femoral neck bone mineral density, TF BMD total femur bone mineral density, TNF- $\alpha$  tumor necrosis factor- $\alpha$ , IL-6 interleukin-6, DAS28 Disease Activity Score in 28 Joints, ESR erythrocyte sedimentation rate, CRP C-reactive protein

## Discussion

The present study was designed to assess bone tissues and compare different treatments for RA because several studies have reported that biologic DMARDs outperform other DMARD classes with respect to the prevention of bone mass loss [4, 6, 13–15, 19, 20]. Thus, this study tested the hypothesis that patients with RA who were receiving biologic DMARDs could have higher BMD and lower levels of CTX and pro-inflammatory cytokines. The results did not support this hypothesis, suggesting an absence of correlation between drug therapy for RA, serum levels of pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$  and IL-6), and bone health measurements (BMD and

bone resorption biomarker) in the study population. The small sample size might have had a negative impact on the effect size. Nonetheless, some studies suggest that if remission or low disease activity is achieved, it will induce a decrease in osteoclastic activity, irrespective of RA treatment [9, 21]. In our sample, 66% of patients achieved the RA therapeutic target (i.e., remission or low disease activity), suggesting decreased circulating cytokine levels and low bone resorption.

Another key issue is time. The present study was a cross-sectional analysis, precluding measurements of gradual changes in BMD. Bone remodeling is a slow process [1, 19], and changes in the trend towards reduced bone resorption might not have been adequately evaluated in this cross-sectional study. Chen et al. reported that the BMD at all analyzed sites (lumbar spine, total femur, and femoral neck) increased over three years in patients with AR who were on biologic and target-specific DMARDs [15]. Long-term follow-up has also been highlighted as essential for the evaluation of bone biomarkers, as pointed out by Tomizawa et al. [22]. Their data were evaluated by comparing densitometry values in a two-year interval, correlating changes in bone density at different sites with specific biomarkers [22].

In our study, 74.3% of patients used prednisone daily; the majority (62.8%) of these patients used prednisone at doses lower than 10 mg/day, which is in line with current treatment guidelines for RA that advocate the lowest necessary prednisone dose within the shortest possible time [19, 23–25]. The recommendation to avoid the use of corticosteroids as much as possible seeks to prevent and minimize adverse events, such as an increased risk of arterial hypertension, type II diabetes mellitus, obesity, glaucoma, early cataracts, and osteoporosis, which can be induced by glucocorticoids [1, 10, 25, 26]. Ultimately, the results of the overall patient evaluation highlighted the correlation between prednisone dose and CTX ( $r=0.371$ ). This correlation may be explained by the catabolic effect of corticosteroids on bone [27].

Factors that could increase bone resorption in patients with RA are not limited to disease activity itself. Traditional factors such as body mass index, family history of hip fractures due to fragility, corticoid use, tobacco smoking, alcohol consumption, and known causes of secondary osteoporosis should also be considered. All of these clinical risk factors are factored into the FRAX risk calculator [17, 18, 25]. The results indicated that 86% of patients evaluated in this study were in the yellow or red zone of the 10-year probability of a major fracture. This finding underscores the need for continuous evaluation and prophylaxis for osteoporosis in these patients, as recommended by the World Health Organization in protocols for bone densitometry indications [1, 24, 28–30].

## **Conclusion**

This study addressed several topics concerning the intricate relationship between dynamic bone remodeling and RA. A positive point of this study was the alert for specific points to optimize during routine clinical consultations with patients with RA, particularly encouraging lifestyle changes such as smoking cessation, routine physical activities and exercise, sun exposure for those without contraindications, and a balanced, calcium-rich diet. It also focused on the need for assessing bone health even in young patients, as the risk of future osteoporosis and fractures is too high.

In conclusion, even if our hypothesis was not confirmed, rheumatoid arthritis treatment strategy treat-to-target with any disease-modifying antirheumatic drugs achieving low disease activity or remission decrease circulating cytokine levels and induces low bone resorption. This reinforces that the therapeutic strategy of treat-to-target presents benefits to the patient that go beyond avoiding the radiographic progression of the disease

and joint deformities. Further research is needed, mainly prospective, real-life long-term follow-up studies, to assess the impact of each type of therapy for rheumatoid arthritis on bone tissue dynamics.

### **List of abbreviations**

BMD: bone mineral density

CPR: C-reactive protein

CTX: bone turnover biomarker C-terminal telopeptide

DAS28: Disease Activity Score in 28 Joints

DMARDs: disease-modifying antirheumatic drugs

csDMARDs: conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drugs

bDMARDs: biologic disease-modifying antirheumatic drugs

ts DMARDs: target-specific disease-modifying antirheumatic drugs

ESR: *erythrocyte sedimentation rate*

IL-6: interleukin-6

TNF- $\alpha$ : tumor necrosis factor- $\alpha$

### **Declarations**

#### **Ethics approval and consent to participate**

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Patients who participated in this trial signed an informed consent statement form previously approved by the research ethics committee of the Clinic Hospital Federal University of Triângulo Mineiro (Certificate of Presentation for Ethical Consideration [*Certificado de Apresentação de Apreciação Ética – CAAE*]: 46069821.4.0000.8667), 07/15/2021.

#### **Consent for publication**

Not Applicable

#### **Availability of data and materials**

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

#### **Competing interests**

The authors declare that they have no competing interests.

## Funding

This study was funded by the authors and used resources from Oncology Research Institute, Federal University of Triângulo Mineiro.

## Authors' contributions

GK and MM contributed to the study conception and design. GK and RT performed the data collection. Material preparation and analysis were performed by GK and CS. The first draft of the manuscript was written by GK. MM have drafted the work and substantively revised it. All authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

## Acknowledgements

I thank the Musculoskeletal System Unit at the Clinic Hospital of Federal University of Triângulo Mineiro and following individuals, Camila Ribeiro Milagres and Taciana Fernandes for their expertise and assistance throughout all aspects of our study and for their help in writing the manuscript.

## References

1. Radominski SC, Bernardo W, Paula AP de, Albergaria BH, Moreira C, Fernandes CE, et al. Diretrizes brasileiras para o diagnóstico e tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2017;57(S 2):452–66.
2. Pinheiro MM, Ciconelli RM, Jacques N de O, Genaro PS, Martini LA, Ferraz MB. O impacto da osteoporose no Brasil: dados regionais das fraturas em homens e mulheres adultos - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2010;50(2):113–20.
3. Geusens P, Lems WF. Osteoimmunology and osteoporosis. *Arthritis Research and Therapy*. 2011;13(5):1–16.
4. Bultink IEM, Vis M, van der Horst-Bruinsma IE, Lems WF. Inflammatory rheumatic disorders and bone. *Current Rheumatology Reports*. 2012;14(3):224–30.
5. Takayanagi H. Osteoimmunology as an intrinsic part of immunology. Vol. 33, *International Immunology*. Oxford University Press; 2021. p. 673–8.
6. Takayanagi H. Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone. *Nature Reviews Rheumatology* [Internet]. 2009;5(12):667–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2009.217>
7. Lee SH, Kim TS, Choi Y, Lorenzo J. Osteoimmunology: Cytokines and the skeletal system. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 2008;41(7):495–510.
8. Srivastava RK, Dar HY, Mishra PK. Immunoporosis: Immunology of osteoporosis-role of T cells. *Frontiers in Immunology*. 2018;9(APR):1–12.
9. Yoshii I, Chijiwa T, Sawada N. Rheumatoid arthritis in tight disease control is no longer risk of bone mineral density loss. *Osteoporosis and Sarcopenia*. 2020 Jun;6(2):75–81.
10. Wysham KD, Baker JF, Shoback DM. Osteoporosis and fractures in rheumatoid arthritis. Vol. 33, *Current opinion in rheumatology*. NLM (Medline); 2021. p. 270–6.

11. Raterman HG, Lems WF. Pharmacological Management of Osteoporosis in Rheumatoid Arthritis Patients: A Review of the Literature and Practical Guide. *Drugs and Aging* [Internet]. 2019;36(12):1061–72. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40266-019-00714-4>
12. Smolen JS. Treat-to-target as an approach in inflammatory arthritis. Vol. 28, *Current Opinion in Rheumatology*. Lippincott Williams and Wilkins; 2016. p. 297–302.
13. Gulyás K, Horváth Á, Végh E, Pusztai A, Szentpétery Á, Pethö Z, et al. Effects of 1-year anti-TNF- $\alpha$  therapies on bone mineral density and bone biomarkers in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Clinical Rheumatology*. 2020;39(1):167–75.
14. Vis M, Havaardsholm EA, Haugeberg G, Uhlig T, Voskuyl AE, van de Stadt RJ, et al. Evaluation of bone mineral density, bone metabolism, osteoprotegerin and receptor activator of the NF $\kappa$ B ligand serum levels during treatment with infliximab in patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2006;65(11):1495–9.
15. Chen JF, Hsu CY, Yu SF, Ko CH, Chiu WC, Lai HM, et al. The impact of long-term biologics/target therapy on bone mineral density in rheumatoid arthritis: a propensity score-matched analysis. *Rheumatology*. 2020;1–10.
16. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis and Rheumatism*. 2010;62(9):2569–81.
17. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX<sup>TM</sup> and the assessment of fracture probability in men and women from the UK.
18. Sousa C de J, Oliveira MLC de, Sousa C de J, Oliveira MLC de. FRAX Tool in Brazil: an integrative literature review following validation. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia* [Internet]. 2018 Feb [cited 2020 Jul 15];21(1):108–15. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1809-98232018000100108&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-98232018000100108&lng=en&tlng=en)
19. Zerbini CAF, Clark P, Mendez-Sanchez L, Pereira RMR, Messina OD, Uña CR, et al. Biologic therapies and bone loss in rheumatoid arthritis. *Osteoporosis International*. 2017;28(2):429–46.
20. Al-Bogami M, Bystrom J, Clanchy F, Taher TE, Mangat P, Williams RO, et al. TNF $\alpha$  inhibitors reduce bone loss in rheumatoid arthritis independent of clinical response by reducing osteoclast precursors and IL-20. *Rheumatology (United Kingdom)*. 2021 Feb 1;60(2):947–57.
21. Orsolini G, Fassio A, Rossini M, Adami G, Giollo A, Caimmi C, et al. Effects of biological and targeted synthetic DMARDs on bone loss in rheumatoid arthritis. Vol. 147, *Pharmacological Research*. Academic Press; 2019.
22. Tomizawa T, Ito H, Murata K, Hashimoto M, Tanaka M, Murakami K, et al. Distinct biomarkers for different bones in osteoporosis with rheumatoid arthritis. *Arthritis Research and Therapy*. 2019;21(1):1–9.
23. Rossini M, Adami G, Viapiana O, Idolazzi L, Orsolini G, Fassio A, et al. Osteoporosis: an Independent Determinant of Bone Erosions in Rheumatoid Arthritis? *Journal of Bone and Mineral Research*. 2017;32(10):2142–3.
24. Fardellone P, Salawati E, le Monnier L, Goëb V. Bone Loss, Osteoporosis, and Fractures in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Review. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(10):3361.

25. BRASIL. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da artrite reumatoide [Internet]. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção Especializada à Saúde. Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. 2020 p. 1–194. Available from: [http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2020/Relatrio\\_Artrite\\_Reumatoide\\_CP\\_21\\_2020.pdf](http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2020/Relatrio_Artrite_Reumatoide_CP_21_2020.pdf)
26. Compston J, Cooper A, Cooper C, Gittoes N, Gregson C, Harvey N, et al. UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis. *Archives of Osteoporosis*. 2017 Dec 1;12(1).
27. Wang Y, Zhao R, Gu Z, Dong C, Guo G, Li L. Effects of glucocorticoids on osteoporosis in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporosis International*. 2020;31(8):1401–9.
28. Buksman S, Angélica Pires Ferreira M, Corrêa Krug B, Beatriz Treter Gonçalves C, Medeiros Amaral K, Costa Xavier L, et al. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas, Osteoporose, Portaria SAS/MS nº 451, de 9 de junho de 2014, republicada em 9 de junho de 2014 e retificada em 18 de junho de 2014. 2014;22. Available from: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/15/Osteoporose.pdf>
29. Loures MAR, Zerbini CAF, Danowski JS, Pereira RMR, Moreira C, Paula AP de, et al. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da osteoporose em homens. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2017;57(S 2):497–514.
30. Zanchetta J. Epidemiologia, custos e ônus da osteoporose em 2012. *International Osteoporosis Foundation*. 2012;28.