

**Pedro Paulo de Alcantara Pedro**

**AVALIAÇÃO DA DENSIDADE ÓSSEA, COMPOSIÇÃO  
CORPORAL E FRATURAS POR FRAGILIDADE ÓSSEA EM  
PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME – ESTUDO  
OBSERVACIONAL**

Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de São Paulo – Escola Paulista de  
Medicina para obtenção do título de Mestre em  
Ciências da Saúde Aplicadas à Reumatologia

São Paulo

2023

**Pedro Paulo de Alcantara Pedro**

**AVALIAÇÃO DA DENSIDADE ÓSSEA, COMPOSIÇÃO  
CORPORAL E FRATURAS POR FRAGILIDADE ÓSSEA EM  
PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME – ESTUDO  
OBSERVACIONAL**

Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de São Paulo – Escola Paulista de  
Medicina para obtenção do título de Mestre em  
Ciências da Saúde Aplicadas à Reumatologia

**Orientadora**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Vera Lucia Szejnfeld

**Co-orientadora**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria Stella Figueiredo

**Co-orientador**

Prof. Dr. Marcelo de Medeiros Pinheiro

São Paulo

2023

Pedro, Pedro Paulo de Alcantara

**Avaliação da densidade óssea, composição corporal e fraturas por fragilidade óssea em pacientes com anemia falciforme – estudo observacional / Pedro Paulo de Alcantara Pedro. – São Paulo, 2023**

xii,54.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde Aplicadas à Reumatologia.

Título em Inglês: Assessment of bone density, body composition and fractures due to bone fragility in patients with sickle cell anemia – observational study

1. Doença Falciforme. 2. Anemia Falciforme 3. Osteoporose. 4. Composição corporal. 5. Fratura vertebral.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO**  
**ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**APLICADAS A REUMATOLOGIA**

**Chefe do departamento de Medicina:**

Prof. Dr Jamil Natour

**Coordenador do curso de pós-graduação:**

Prof. Dr Charles Helden de Moura Castro

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO**  
**ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**APLICADAS A REUMATOLOGIA**

**Presidente da Banca**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Vera Lucia Szejnfeld

**Banca examinadora**

Prof. Dr. Diogo Souza Domiciano – HCFMUSP

Prof. Dr. Rodolfo Delfini Cançado – Santa Casa-SP

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Fernanda Brandao de Resende Guimaraes - HCUFMG

**Suplente**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mariana Ortega Perez - HCFMUSP

## DEDICATÓRIA

À minha amada esposa Mariana, por todo carinho, amor, companheirismo e paciência durante todos estes anos.

Aos meus amados pais, Paulo e Silvana, pela criação maravilhosa e incentivo aos estudos, e à minha querida irmã Nicole pela eterna amizade e apoio em todos os momentos.

À estes dedico este trabalho e esforços usados para concretizá-lo.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, por todas as bênçãos recebidas e todos os benefícios que nos tem dado.

À minha amada esposa Mariana, por todo o suporte, incentivos e paciência durante esta jornada acadêmica.

Aos meus amados pais, que com tanto esforço, dedicação e renúncias me propiciaram uma educação de alto nível. Não existe legado maior para os filhos do que o incentivo dos pais à educação e obtenção de conhecimento. E a minha irmã pelo carinho e apoio de sempre.

À minha querida e amada orientadora, Profa. Dra. Vera Lúcia Szejnfeld, que com muita paciência e dedicação tanto me ensinou tanto nos ambulatórios quanto no mestrado, desde a elaboração dos trabalhos enviados aos congressos, ao artigo submetido a publicação. Obrigado por todo o tempo dispendido e logicamente de todas as gargalhadas e divertimento de nossas reuniões.

A minha co-orientadora Dra. Stella Figueiredo pela oportunidade de realizar este estudo em conjunto com o serviço de hematologia e hemoterapia da Universidade Federal de São Paulo. Agradeço ainda por todas as orientações na elaboração da dissertação e do artigo submetido a publicação.

Ao Prof. Dr. Marcelo de Medeiros Pinheiro, pelas importantes orientações para o direcionamento e confecção desta dissertação. Agradeço também todos os ensinamentos no dia a dia dos ambulatórios.

Ao Prof. Dr. Charles Helden de Moura Castro, por ter contribuído sempre na minha formação acadêmica tanto nos ambulatórios quanto nas reuniões científicas. Agradecimento também pela disponibilidade de sempre com sugestões na dissertação e na confecção do artigo submetido a publicação.

Aos meus companheiros da pós-graduação Guilherme, Rywka, Ana Clara, Luiza, Vanessa, Fabio, Thomas e Alex agradeço a parceria no dia a dia dos ambulatórios da osteoporose e das espondiloartrites.

## SUMÁRIO

Dedicatória .....	v
Agradecimentos .....	vi
Lista de Ilustrações e Gráficos .....	viii
Lista de Tabelas .....	ix
Lista de Abreviaturas .....	x
Resumo .....	xi
Abstract .....	xii
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
1.1 Densidade mineral óssea na doença falciforme.....	04
1.2 Composição corporal na doença falciforme.....	08
1.3 Metabolismo ósseo na doença falciforme.....	09
1.4 Fraturas por fragilidade óssea na doença falciforme.....	10
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>11</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>11</b>
3.1 Objetivo primário .....	11
3.2. Objetivo secundário .....	12
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>12</b>
4.1. População estudada .....	12
4.2. Método .....	13
4.3. Análise estatística .....	15
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>15</b>
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>26</b>
<b>7. CONCLUSÕES .....</b>	<b>31</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>32</b>
<b>9. ARTIGO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO.....</b>	<b>35</b>



## LISTA DE ILUSTRAÇÃO E GRÁFICOS

Figura 1 - Fisiopatologia da baixa densidade óssea na doença falciforme.....	10
Figura 2. Deformidades morfométricas osteoporóticas por cada segmento vertebral em pacientes com doença falciforme.....	23

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Manifestações clínicas mais comuns dos pacientes com doença falciforme.....	<b>03</b>
<b>Tabela 2.</b> Avaliação da densidade mineral óssea, através da DXA de coluna vertebral e fêmur, em pacientes com doença falciforme.....	<b>06</b>
<b>Tabela 3.</b> Variáveis antropométricas de homens com DF atendidos no Ambulatório de Anemias Hereditárias - Divisão de Hematologia da UNIFESP/EPM no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014 e controles saudáveis pareados por idade.....	<b>16</b>
<b>Tabela 4.</b> <i>Características clínicas de homens com DF atendidos no Ambulatório de Anemias Hereditárias - Divisão de Hematologia da UNIFESP/EPM no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014</i> .....	<b>17</b>
<b>Tabela 5.</b> <i>Densidade mineral óssea e parâmetros da composição corporal em homens com DF e controles saudáveis pareados por idade</i> .....	<b>18</b>
<b>Tabela 6.</b> <i>Massa óssea, massa magra e massa gorda entre em homens com DF e controles saudáveis pareados por idade</i> .....	<b>19</b>
<b>Tabela 7.</b> <i>Associação entre massa óssea e características clínicas em pacientes com DF</i> .....	<b>20</b>
<b>Tabela 8.</b> <i>Associação entre massa magra, pelo critério de Baumgartner, e características clínicas em pacientes com DF</i> .....	<b>21</b>
<b>Tabela 9.</b> <i>Associação entre massa gorda, pelo critério do NHANES III, e características clínicas em pacientes com DF</i> .....	<b>22</b>
<b>Tabela 10.</b> <i>Associação entre fratura vertebral e características clínicas em pacientes com DF</i> .....	<b>24</b>
<b>Tabela 11.</b> <i>Associação entre fratura vertebral e diagnóstico de massa óssea, massa magra e massa gorda em pacientes com DF</i> .....	<b>25</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

AF: anemia falciforme

AVC: acidente vascular cerebral

bDMO: baixa densidade mineral óssea

$\beta$ Hb: subunidade  $\beta$  da hemoglobina

CTX: telopeptídeo carboxiterminal do colágeno tipo I

DF: doença falciforme

DMO: densidade de mineral óssea

DXA: absorciometria por raio-X de dupla energia

EPO: eritropoetina

FMI: Fat mass index

FNIH: mais recentemente publicado pela Foundation

Hb: hemoglobina

HbA: hemoglobina normal

HbS: hemoglobina S

IMC: índice massa corporea

IMMA-B: índice de massa magra por Baumgartner

IMMG: índice massa gorda

ISCD: sociedade internacional de densitometria clínica

MRO: marcadores de formação e reabsorção óssea

OMS: organização mundial da saúde

OP: osteoporose

STA: síndrome torácica aguda;

TF: traço falciforme

## RESUMO

**Introdução:** A doença falciforme (DF) é a hemoglobinopatia mais comum no mundo, e geralmente é associada a desfechos musculoesqueléticos adversos e baixa massa óssea. **Objetivo:** Avaliar a densidade mineral óssea (DMO), parâmetros da composição corporal e taxa de fratura por fragilidade em homens com DF, e investigar a potencial associação com os parâmetros clínicos. **Metodologia:** Um total de 44 pacientes com DF ( $29,5 \pm 12$ ) e 88 controles saudáveis ( $27,7 \pm 6$ ) foram pareados por idade. Foram avaliadas fraturas vertebrais morfométricas de baixo impacto utilizando raios X de coluna convencional, enquanto DMO e parâmetros da composição corporal foram mensurados pela absorciometria por dupla emissão de raios X (DXA). **Resultados:** Homens com DF tiveram significativamente maiores taxas de baixa massa óssea (31,7% vs 5,7%;  $p < 0,001$ ), baixa massa magra (36,6% vs 14,8%;  $p = 0,010$ ) e baixa massa gorda (51,2% vs 3,4%;  $p < 0,001$ ) quando comparado com os controles saudáveis. 15 fraturas vertebrais morfométricas foram observadas em 21% dos pacientes com DF. Nem parâmetros densitométricos e nem características clínicas foram significativamente associadas a fratura vertebral. **Conclusão:** Homens com DF apresentam altas taxas de fratura vertebral, baixa massa óssea, baixa massa magra e baixa massa gorda comparado a controles saudáveis pareados por idade. Nenhuma característica clínica ou variável densitométrica foi significativamente associada com fratura vertebral.

**PALAVRAS-CHAVE:** doença falciforme; osteoporose; composição do corpo; fratura vertebral

## ABSTRACT

**Introduction:** The most common hemoglobinopathy around the world, Sickle cell disease (SCD) is often associated with adverse musculoskeletal outcomes and low bone mass. **Objective:** To evaluate bone mineral density (BMD), body composition parameters and fragility fractures rate in men with SCD and investigate its potential association clinical parameters. **Methodology:** A total of 44 men with SCD ( $29.5 \pm 12$ ) and 88 healthy controls ( $27.7 \pm 6$ ) matched for age were evaluated. Morphometric low-impact vertebral fractures were assessed using conventional spine X-rays, while bone mineral density (BMD) and body composition parameters were measured by dual X-ray absorptiometry (DXA). **Results:** Men with SCD had significantly higher rates of low bone mass (31.7% vs 5.7%;  $P < 0.001$ ), low lean mass (36.6% vs 14.78%;  $p = 0.010$ ) and low fat mass (51.2% vs 3.4%;  $p < 0.001$ ) when compared to their healthy controls. Morphometric grades 15 vertebral fractures were observed in 21% of the SCD patients. Neither densitometric parameters nor clinical characteristics were significantly associated with vertebral fracture. **Conclusion:** Men with SCD present high rates of vertebral fractures, low bone, low lean and low fat mass as compared to age-matched healthy controls. No clinical characteristic or densitometric variable was significantly associated with vertebral fracture.

**KEYWORDS:** sickle cell disease; osteoporosis; body composition; vertebral fracture



## 1. INTRODUÇÃO

A doença falciforme (DF) é um termo genérico que compreende um grupo de doenças hereditárias autossômicas recessivas caracterizadas pela dominância da hemoglobina S (HbS), a qual é originada por mutações no gene que codifica a subunidade  $\beta$  da hemoglobina ( $\beta$ Hb)(BENENSON; PORTER, 2018). Essas alterações podem ocorrer em homozigose, como no caso da anemia falciforme (AF), forma mais grave da doença, ou em heterozigose, na qual a hemoglobina falcêmica associa-se a outras hemoglobinas patológicas (SC,  $S\beta$ -talassemia, entre outras)(HOUWING et al., 2019; JOHNSON, 2017). Os indivíduos que possuem a HbS associada à hemoglobina normal (HbA) não costumam apresentar quaisquer alterações clínicas apesar de serem portadores do traço falcêmico (TF) (BENENSON; PORTER, 2018a).

Dada a heterogeneidade na gravidade da DF, é surpreendente reconhecer que a HbS surge de uma única mutação pontual que é a substituição da adenina pela timina no sexto códon do gene da  $\beta$  globina, codificando assim, uma valina no lugar do ácido glutâmico (AZAR; WONG, 2017). Em um estado desoxigenado, a HbS pode formar agregados que levam ao alongamento e rigidez das hemácias, as quais adquirem a forma de “foice”, dando o nome à doença (MAGDOFF-FAIRCHILD; SWERDLOW; BERTLES, 1972). Essa distorção na conformação da hemácia é a base fundamental para a ocorrência de anemia hemolítica e fenômenos vaso-oclusivos, disfunção orgânica e consequentemente menor sobrevida nas pessoas com DF (TELEN; MALIK; VERCELLOTTI, 2019). Desta forma, desde a infância esses pacientes tendem a acumular danos orgânicos justificando a elevada morbimortalidade ainda no início da fase adulta.

A ocorrência de anemia hemolítica crônica e episódios isquêmicos de vaso-oclusão levam a complicações agudas e crônicas em diversos sistemas (TABELA 1) (ALMEIDA; ROBERTS, 2005; BENENSON; PORTER, 2018; NATRAJAN; KUTLAR, 2015), contribuindo potencialmente para falência progressiva de órgãos (HOUWING et al., 2019; JOHNSON, 2017). As complicações osteoarticulares embora não contribuam diretamente para a mortalidade, reduzem a qualidade de vida e aumentam a carga significativa da doença (BENENSON; PORTER, 2018). Os episódios dolorosos vaso-oclusivos são a manifestação óssea mais comum, podendo estar presente diariamente em até 30% dos pacientes (NATRAJAN; KUTLAR, 2015; SMITH et al., 2008) tornando-se assim, a marca registrada dos pacientes com DF (MILLER et al., 2006; OSUNKWO, 2013). Cronicamente uma das complicações ósseas a ser destacada é a baixa densidade mineral óssea (bDMO), bastante prevalente tanto em crianças quanto em adultos, e que acarreta elevada morbimortalidade ainda mais em uma população que recentemente tem vivido até a quinta década de vida (MILLER et al., 2006a).



Tabela 1 - Manifestações clínicas mais comuns dos pacientes com doença falciforme

SISTEMAS	COMPLICAÇÕES MAIS COMUNS
hematológico	anemia
neuropsiquiátrico	ansiedade depressão distúrbios do sono acidente vascular encefálico
cardiovascular	cardiomiopatia
genitourinário	microalbuminúria e doença renal crônica priapismo
pulmonar	síndrome torácica aguda embolia pulmonar hipertensão pulmonar
pele	úlceras crônicas
olhos	retinopatia
imunológico	infarto esplênico infecções bacterianas
osteoarticular	agudas <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ crise dolorosa vaso-oclusiva</li> <li>▪ osteomielite</li> <li>▪ fratura por estresse</li> <li>▪ colapso vertebral</li> <li>▪ necrose de medula óssea</li> </ul>
	crônicas <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ osteonecrose</li> <li>▪ artrite</li> <li>▪ osteopenia/osteoporose</li> <li>▪ parada de crescimento</li> </ul>

Adaptado: (ALMEIDA; ROBERTS, 2005; BENENSON; PORTER, 2018; NATRAJAN; KUTLAR, 2015)

### 1.1 DENSIDADE MINERAL ÓSSEA NA DOENÇA FALCIFORME

Embora as causas das anormalidades ósseas nos pacientes com DF não estejam completamente elucidadas, atribui-se à hiperplasia medular o fator patogênico mais importante para a perda óssea nesses pacientes, semelhante ao que ocorre na talassemia (ALMEIDA; ROBERTS, 2005; BRINKER et al., 1998). A anemia crônica e o aumento da eritropoiese sobrecarrega a medula óssea que durante o processo de hiperplasia ocasiona diminuição da rede trabecular e osteopenia (BRINKER et al., 1998). Além disso, a medula óssea apresenta um fluxo sanguíneo lento e um ambiente de baixa concentração relativa de oxigênio, o que aumenta a probabilidade de falcização das hemácias e oclusão dos vasos (NATRAJAN; KUTLAR, 2015). Com isso, a presença de bDMO somada ao infarto da medula óssea vertebral podem produzir colapso das vértebras adquirindo a típica aparência de boca de peixe, ou vértebra em H (MURRAY, 1974).

A maioria dos estudos que quantificaram a prevalência da bDMO nos pacientes com DF utilizaram o método absorciometria por raio-X de dupla energia (DXA), tanto em crianças quanto em adultos. Apesar de divergências metodológicas entre os estudos, todos apontaram para uma prevalência bastante significativa de bDMO, principalmente na faixa etária adulta (TABELA 2). Esses resultados não se limitaram ao genótipo mais grave da DF, visto que dados semelhantes foram encontrados também nas formas heterozigóticas da doença (SC;S $\beta$ ). Na quase totalidade desses estudos a coluna lombar predominou como sítio mais acometido. Além disso, taxas mais expressivas de bDMO foram encontradas conforme populações mais velhas foram estudadas,

inclusive com predomínio do número de pacientes em níveis de osteoporose sobre os níveis de osteopenia (BALDANZI et al., 2011a; MILLER et al., 2006a).

Ademais, Baldanzi et al demonstraram ainda, uma correlação entre maior idade e menor DMO, independente do gênero(BALDANZI et al., 2011). Um fator cada vez mais a ser considerado na avaliação do risco de fratura desses pacientes, visto que essa população tem alcançado maior longevidade nas últimas décadas.

A mineralização óssea em crianças com DF é desfavorecida por diversos fatores dentre os quais destacam-se puberdade tardia, subnutrição, baixos níveis de vitamina D, atividade física reduzida e aumento de mediadores inflamatórios (BARDEN et al., 2002; BUISSON et al., 2004). Logo, não é surpreendente que a grande maioria dos adultos com DF apresentam bDMO, uma vez que a maioria desses pacientes falha em atingir o pico ideal de massa óssea durante o seu crescimento (ALMEIDA; ROBERTS, 2005; SOYKA; FAIRFIELD; KLIBANSKI, 2000).

A DF é caracterizada por possuir danos cumulativos, quanto maior evolução da doença maior a probabilidade de outras comorbidades virem a contribuir para a fragilidade óssea. Assim, têm-se estudado diversas condições clínicas e preditores laboratoriais que se correlacionam com a bDMO, a fim de se estabelecer uma estratégia de triagem, monitorização e acompanhamento terapêutico eficaz nesses pacientes.

Tabela 2 - Avaliação da densidade mineral óssea, através da DXA de coluna vertebral e fêmur, em pacientes com doença falciforme

Referência	Genótipo	País	N	M (R)	P (%)
Lal et al, 2006	SS	EUA	25	12,8 (9-19)	64,00%
Voskaridou et al, 2006	Sβ	Grécia	52	40 (23-70)	32,00%
Miller et al, 2006	SS; SC; Sβ	EUA	32	34 (18-51)	71,90%
Sarrai et al, 2007	SS; SC; Sβ	EUA	103	36,4 (15-80)	79,60%
Sadat-Ali et al, 2011	SS	Arábia Saudita	100	27 (18-35)	62,20%
Baldanzi et al, 2011	SS	Brasil	65	32,5 (20-64)	81,50%
Meeuwes et al, 2013	SS	Brasil	27	14,9 (7-27)	41,00%
Garadah et al, 2015	SS	Bahrein	55	29,24 (>18)	55,00%
Adesina et al, 2018	SS; SC; Sβ	EUA	306	12,5 (7-27)	31,00%

N: número de pacientes; M: média de idade; (R): variação da idade; P: prevalência de bDMO

A deficiência de vitamina D é altamente prevalente nos pacientes com DF em todas as faixas etárias, com taxa média de cerca 75% (ARLET et al., 2013; CHAPELON et al., 2009), chegando até 87% como demonstrado por Miller et al (MILLER et al., 2006a). Embora seja um fator de risco clássico para osteoporose, nos pacientes com DF essa correlação é controversa, visto que há estudos sem correlação com bDMO (CHAPELON et al., 2009; MILLER et al., 2006) e outros que estabeleceu-se o risco (ARLET et al., 2013; GARADAH et al., 2015). A baixa ingestão de cálcio é outro dado nutricional que, apesar de altamente prevalente nesta população, também não foi concisamente correlacionada a bDMO(LAL et al., 2006a).

A hiperplasia medular, fator apontado como o mais importante na fisiopatogênese da bDMO em pacientes com DF, ocorre conseqüente ao quadro de anemia hemolítica crônica seguido do aumento da eritropoiese (BRINKER et al., 1998). Apesar de algumas diferenças metodológicas, alguns estudos corroboraram tal hipótese quando demonstraram a correlação da bDMO com níveis mais baixos de Hb, elevação dos marcadores de hemólise (desidrogenase láctica; reticulócitos) e dos níveis de eritropoetina (BALDANZI et al., 2011; GARADAH et al., 2015; NOURAIE et al., 2011; SARRAI et al., 2007; VOSKARIDOU et al., 2006)

Pacientes com DF possuem alto risco para sobrecarga de ferro, uma vez que podem necessitar de hemotransfusões recorrentes conforme gravidade clínica e níveis de Hb. O ferro pode desencadear OP através de vários mecanismos, como menor atividade osteoblástica, hipogonadismo, hipotireoidismo e estresse oxidativo reativo (TSAY et al., 2010). No entanto, endocrinopatias secundárias a sobrecarga de ferro na DF parece ser rara (VICHINSKY et al., 2005a). Diante dessa premissa, alguns estudos foram realizados a fim de correlacionar a sobrecarga de ferro e bDMO, através dos níveis séricos de ferro, ferritina e número de hemotransfusões (FUNG et al., 2008; SADAT-ALI et al., 2011; SARRAI et al., 2007; VICHINSKY et al., 2005). Enquanto Sadat-Ali et al e Sarrai et al correlacionaram bDMO com altos níveis de ferro e ferritina sérica, Fung et al e Vichinsky et al além de não constatarem essa relação, também não observaram diferença entre a DMO de pacientes com histórico recorrente de transfusões e não-transfundidos (FUNG et al., 2008; SADAT-ALI et al., 2011; SARRAI et al., 2007; VICHINSKY et al., 2005)

## 1.2 COMPOSIÇÃO CORPORAL NA DOENÇA FALCIFORME

Alguns estudos metabólicos realizados em pacientes com DF indicaram gasto energético elevado mesmo em repouso, e com isso alto catabolismo proteico, o qual pode ter efeitos negativos no acréscimo do peso corporal, particularmente de massa magra (BARDEN et al., 2002; SINGHAL et al., 1993). Deficiências de micronutrientes também estão associados a redução da reserva de tecido magro ou de gordura na DF (LEONARD et al., 1998). Há poucos estudos na literatura que avaliam a composição corporal dos pacientes com DF, a quase a totalidade realizada em crianças e adolescentes, uma vez que este método de avaliação é utilizado largamente para avaliação do status nutricional e de seu crescimento (EKE et al., 2015).

Dois estudos realizados em crianças africanas com DF além de refletir baixos índices de massa magra, também apresentaram correlação com doença mais grave: maior número de episódios vaso-oclusivo e crises graves de anemia (EKE et al., 2015; MABIALA-BABELA et al., 2005). Resultados semelhantes foram vistos também por Barden et al quando avaliaram a composição corporal de crianças afro-americanas, na qual a média de massa magra, massa gorda e percentual de gordura foram menores no grupo de DF (BARDEN et al., 2002). Essas anormalidades na composição corporal sugerem que as necessidades nutricionais das crianças com DF não estão sendo atendidas.

Há somente um estudo que analisa composição corporal em adultos com DF, sendo este o único que também os correlaciona a bDMO (WOODS et al., 2001). Woods et al demonstraram que mesmo com o índice de massa corpórea (IMC) dentro da normalidade, os pacientes com DF apresentavam altos níveis

de tecido adiposo e baixa massa magra, estes correlacionados com bDMO(WOODS et al., 2001). Infere-se que estes pacientes sejam mais sedentários devido a intolerância ao exercício e muitas vezes por incapacidade física decorrente das complicações osteoarticulares da DF (WOODS et al., 2001). Assim, deve-se atentar para a elevação da obesidade principalmente nessa faixa etária, a qual pode ser mascarada pelo baixo índice de massa magra existente nessa população.

### 1.3 METABOLISMO ÓSSEO NA DOENÇA FALCIFORME

Marcadores bioquímicos de formação e reabsorção óssea (MRO) podem ser combinados para avaliar o desequilíbrio na remodelação óssea(GARNERO; DELMAS, 1998). Esses marcadores podem ser analisados através de uma atividade enzimática das células osteoblásticas ou osteoclásticas, ou medindo componentes da matriz óssea liberados na circulação durante o processo remodelação (GARNERO; DELMAS, 1998). Alguns estudos já demonstraram que pacientes com DF apresentam elevação dos MRO comparado a indivíduos saudáveis (BUCHOWSKI et al., 2001; FUNG et al., 2008; LAL et al., 2006). Há na literatura correlação com maior taxa de renovação das proteínas corporais e gasto energético em repouso (BUCHOWSKI et al., 2001), velocidade de crescimento e desenvolvimento puberal (FUNG et al., 2008), baixos níveis de vitamina D (LAL et al., 2006), citocina pró-inflamatória e número de hemotransfusões realizadas(NOURAIE et al., 2011). Tais associações sugerem que o aumento do metabolismo óssea esteja atrelado a diversas condições já implicadas na redução da DMO desses pacientes como: estado hipercatabólico, alterações hormonais, deficiência nutricional, sobrecarga de ferro e estado pro-inflamatório. No entanto há poucos estudos que correlacionem diretamente o

nível desses marcadores com a DMO desses pacientes (CHAPELON et al., 2009; FUNG et al., 2008a).

Se em crianças e adolescentes com DF Lal et al não encontraram diferença nos níveis de MRO entre pacientes com DMO baixa e normal, esta correlação foi demonstrada em adultos por Voskaridou et al (LAL et al., 2006). Além dos pacientes com OP e osteopenia apresentarem elevação dos MRO, nesse estudo o aumento da atividade da EPO foi fortemente correlacionado com a elevação dos níveis do telopeptídeo carboxiterminal do colágeno tipo I (CTX), confirmando mais uma vez que a hiperplasia de medula óssea é um dos maiores responsáveis pela destruição óssea nesses pacientes (VOSKARIDOU et al., 2006).

Figura 1 - Fisiopatologia da baixa densidade óssea na doença falciforme



#### 1.4 FRATURAS POR FRAGILIDADE ÓSSEA NA DOENÇA FALCIFORME

Há somente dois estudos descritos na literatura que avaliaram fratura por fragilidade óssea em pacientes com DF (ARLET et al., 2013; FUNG et al., 2008),



porém em ambos não foi investigado a correlação com a DMO. Fung et al avaliaram a relação entre a prevalência de fraturas e endocrinopatia em pacientes com sobrecarga de ferro e não se observou diferença quando comparado ao controle (FUNG et al., 2008). Já Arlet et al encontraram correlação entre os níveis de deficiência da vitamina D com uma maior prevalência no histórico de fraturas (ARLET et al., 2013). Nesse estudo, níveis extremamente baixos (< 6ng/ml) de 25(OH)vitamina-D foram também associados ao aumento da reabsorção óssea pela dosagem de CTX (ARLET et al., 2013).

## **2. JUSTIFICATIVA**

Embora esteja bem definido na literatura a alta prevalência de baixa massa óssea nos pacientes com doença falciforme, são escassos os estudos que a correlaciona com fraturas por fragilidade nesta população. Desde cedo acumulando danos em múltiplos órgãos esses pacientes experimentam uma qualidade de vida ímpar, piorada quando o impacto é maior sobre o sistema osteoarticular. Partindo da premissa que pacientes com doença falciforme possuem alto risco para fraturas por fragilidade óssea, há necessidade de se investigar a correlação com potenciais preditores clínicos e laboratoriais, os quais podem trazer um novo conhecimento que auxilie na elaboração de uma estratégia de rastreio, monitorização ou intervenção a fim de minimizar os danos sobre o sistema osteoarticular, e assim garantir uma melhor qualidade de vida.

## **3. OBJETIVOS**

*Objetivo primário:*

- Estudar a densidade óssea, composição corporal, fraturas de baixo impacto em pacientes adultos do sexo masculino com doença falciforme.

*Objetivos secundários:*

Avaliar a associação de características clínicas dos pacientes com:

- presença de fratura de baixo impacto;
- baixa massa óssea e massa óssea adequada para idade
- baixa massa muscular

## **4. MATERIAL E MÉTODO**

*Desenho do estudo:*

Estudo observacional retrospectivo

### **4.1 População estudada**

*Tamanho da amostra*

Foram incluídos 132 participantes, 44 pertencentes ao grupo caso e 88 ao grupo controle.

*Casuística:*

Foram incluídos 44 pacientes do sexo masculino com diagnóstico de doença falciforme em homozigose (SS) ou heterozigose (S $\beta$ -talassemia), acompanhados no Ambulatório de Anemias Hereditárias da Disciplina de Hematologia da UNIFESP/EPM de janeiro de 2013 a dezembro de 2014.

*Crítérios de inclusão:*

- Indivíduos adultos do sexo masculino;
- Com diagnóstico de Doença Falciforme (homozigose SS ou heterozigose S $\beta$ -talassemia), estabelecido por cromatografia líquida de alta performance (HPLC),

*Crêterios de exclusão:*

- Pacientes com insuficiência renal crônica (TFG<30ml/min);
- Pacientes que fizeram reposi o de cálcio, vitamina D ou qualquer outro medicamento utilizado para o tratamento da osteoporose, tais como bisfosfonatos, denosumabe, teriparatida entre outros;
- Pacientes que fizeram uso de corticosteroides.

Pacientes em uso de marevam ou com história de osteonecrose não foram excluídos

*Grupo Controle:*

O grupo controle consistiu em 88 indivíduos adultos do sexo masculino, saudáveis, pareados por idade.

*Protocolo clínico dos pacientes do grupo estudo:*

A partir de um banco de dados do ambulatório de anemias hereditárias da disciplina de hematologia e hemoterapia da UNIFESP/EPM, foram coletadas informa es quanto ao diagnóstico e genótipo, evolu o da doença como complica es agudas e crônicas e uso de medicamentos;

## **4.2 Métodos**

*Protocolo clínico dos indivíduos do grupo controle:*

A partir de um banco de dados presente na disciplina de reumatologia da UNIFESP/EPM, foram coletadas informa es quanto a composi o corporal e densidade mineral óssea de indivíduos com sexo masculino pareados para idade.

Todos os dados coletados foram anonimizados sem nenhuma evidência de identifica o dos participantes do estudo. A anonimiza o foi realizada através da enumera o dos participantes (exemplo: indivíduo 1, indivíduo 2, indivíduo 3, até o indivíduo 132). Desta forma, foi dispensado o termo de consentimento livre e esclarecido, uma vez que não haverá identifica o nominal dos dados.

### *Avaliação de Fratura vertebral*

Radiografias da coluna lombar e dorsal em antero-posterior e perfil foram sistematicamente avaliadas para verificar presença de fraturas vertebrais. As fraturas vertebrais foram classificadas usando o método semiquantitativo (SQ) de Genant (GENANT et al., 1993). Cada radiografia foi avaliada por um clínico treinado (M.M.P.) para decidir se continha uma fratura em alguma das vértebras visualizadas. Foi atribuído um grau com base na escala Genant SQ, onde a fratura de grau 1 (leve) é uma redução na altura vertebral de 20–25%, grau 2 (moderada) é uma redução de 26–40% e grau 3 (grave) é uma redução de mais de 40%. Deformidades na coluna Genant SQ grau 2 e 3 foram considerados como fraturas vertebrais.

### *DMO e parâmetros da composição corporal*

A DMO foi determinada por um equipamento DPX MD+ (GE – Lunar DPX Medical Systems Radiation Corporation, Madison, WI, EUA). As varreduras DXA foram obtidas por procedimentos padrão de acordo com o fabricante e a análise da DMO da coluna lombar (L1-L4), colo do fêmur e fêmur total seguiu as recomendações internacionais (LEWIECKI et al., 2008). Todas as medições de DMO foram realizadas por um técnico experiente com controle de qualidade diário usando um fantoma Lunar, conforme instruções do fabricante. As vértebras lombares fraturadas foram excluídas da medição da DMO. A precisão do fantasma expressa como coeficiente de variação (CV) foi de 0,06%. Os parâmetros de composição corporal incluíram: massa magra apendicular (ALM) obtida pela soma da massa magra de braços e pernas e gordura corporal (BF) tanto em quilogramas quanto em percentual. A partir dos dados brutos obtidos para o ALM, calculou-se o índice de massa esquelética (SMI), conforme modelo previamente proposto ( $SMI = ALM/altura^2$ ) (BAUMGARTNER et al., 1998). Assim, o índice de massa gorda (FMI) foi calculado a partir da BF ( $FMI = BF/altura^2$ ). A precisão da densitometria óssea expressa como raiz quadrada média do CV para coluna lombar e DMO total do fêmur, porcentagem de BF, BF em gramas e ALM foram 2%, 3%, 1,62%, 1,53% e 1,64%, respectivamente,

como anteriormente publicado (SOUSA et al., 2013). O mesmo examinador (M.M.P.) realizou a análise de todos os exames DXA.

Com base na Conferência de Desenvolvimento de Posição da Sociedade Internacional de Densitometria Clínica 2019 (SHUHART et al., 2019), a baixa massa óssea foi definida como um escore  $Z \leq -2$ . Foram usadas as definições de baixa massa magra de acordo com os critérios de Baumgartner (JANSSEN et al., 2004) e FNIH (Foundation for the National Institutes of Health Biomarkers Consortium Sarcopenia Project) (STUDENSKI et al., 2014). Segundo os critérios de Baumgartner um SMI ( $ALM/altura^2$ )  $< 7$  Kg/m<sup>2</sup> define baixa massa magra em homens (CRUZ-JENTOFT et al., 2019). Usando o ALM ajustado para o IMC, o FNIH define baixa massa magra como valores  $< 0,789$  (STUDENSKI et al., 2014), valores de referência do índice de massa gorda (FMI) propostos por NHANES III (3-6 Kg/m<sup>2</sup>) (BEAVERS et al., 2009) foram usados neste estudo.

### **4.3 Análise Estatística**

Dados antropométricos, composição corporal e parâmetros de DMO foram expressos em mediana  $\pm$  intervalo interquartil (IQR) ou média  $\pm$  desvio padrão, enquanto genótipo, características clínicas e fraturas vertebrais foram expressos em número (N) e percentual (%). O teste t de Student e o teste U de Mann-Whitney foram aplicados para comparar variáveis contínuas entre pacientes com DF e controles. Avaliamos a normalidade dos dados em variáveis contínuas por meio do teste de Shapiro Wilk. Para variáveis categóricas, foi utilizado o teste de associações exato de Fisher. Para todos os testes, o nível de significância foi estabelecido como  $P \leq 0,05$ . As análises foram realizadas com o software estatístico SAS versão 9.4.

## **5. RESULTADOS**

Foram incluídos 44 pacientes pertencentes ao banco de dados de indivíduos com doença falciforme da disciplina de hematologia, enquanto os 88 controles saudáveis foram obtidos a partir de um banco de dados da disciplina de reumatologia. Os controles foram selecionados pareados por idade.

Na tabela 3 estão listadas as variáveis demográficas do grupo estudo e grupo controle. Observa-se que embora a altura e IMC tenham sido semelhante entre os dois grupos, os pacientes apresentaram peso significativamente mais baixo que o grupo controle. Em relação a etnia verifica-se que os grupos não são homogêneos.

Tabela 3. Variáveis antropométricas de homens com DF atendidos no Ambulatório de Anemias Hereditárias - Divisão de Hematologia da UNIFESP/EPM no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014 e controles saudáveis pareados por idade e IMC.

Variável	N	DF	N	Saudáveis	p-valor
Etnia, N (%)					
Caucasiano	10	(22.7)	53	(60.2)	<0.001 <sup>1</sup>
Não-caucasiano	34	(77.3)	35	(39.8)	
Idade, anos - Mediana±IQR	44	29.5±12	88	27.7±6	0.541 <sup>2</sup>
Peso (kg) - Mediana±IQR	41	63±14	88	73±8	<0.001 <sup>2</sup>
Altura (m) - Media±DP	41	1.74±0.06	88	1.74±0.06	0.727 <sup>3</sup>
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) - Mediana±IQR	41	20.6±4.3	88	24.2±2.2	0.384 <sup>2</sup>

1: Fisher's exact test; 2: Mann-Whitney U test; 3: Student-T test; IMC: índice de massa corporea; IQR: interval interquartile; DP: desvio padrão.

As características clínicas dos pacientes com doença falciforme se encontram na Tabela 4. Com relação ao genótipo a maioria era homozigótica (85,4%), apresentava crise algica como complicação aguda mais frequente (65,8%), enquanto a presença de microalbuminúria se destaca como complicação crônica mais prevalente (39%). A hidroxiureia foi a medicação mais utilizada por esses pacientes (68,3%).

Tabela 4. Características clínicas de homens com DF atendidos no Ambulatório de Anemias Hereditárias - Divisão de Hematologia da UNIFESP/EPM no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014

<b>Características clínicas</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Genótipo		
SS, n (%)	35	85.4
S $\beta$ , n (%)	6	14.6
Complicações agudas		
Crise álgica, n (%)	27	65.8
STA, n (%)	21	51.2
Priapismo, n (%)	12	29.3
AVC, n (%)	3	7.3
Complicações crônicas		
Osteonecrose, n (%)	8	19.5
Hipertensão Pulmonar, n (%)	9	21.9
Retinopatia, n (%)	7	17.1
Microalbuminúria, n (%)	16	39.0
Uso de Hidroxiureia, n (%)	28	68.3

STA: síndrome torácica aguda; AVC: acidente vascular cerebral

As medições de DMO e os parâmetros de composição corporal em homens com DF e seus controles saudáveis pareados por idade são mostrados na Tabela 5. Embora as medições de DMO no colo do fêmur, fêmur total e coluna lombar em SCD tenham sido menores do que nos controles, elas não diferiram significativamente. A Tabela 5 também demonstra que a massa magra apendicular ajustada pela estatura proposta por Baumgartner e a massa magra apendicular ajustada pelo IMC (conforme recomendado pelo grupo FNIH), ambas não diferiram significativamente entre os grupos. FMI foi menor também em pacientes com DF, mas também não diferiu significativamente nos controles saudáveis. Não foi possível obter os dados densitométricos de três dos 44 pacientes com DF.

Tabela 5. Densidade mineral óssea (DMO) e parâmetros da composição corporal em homens com DF e controles saudáveis pareados por idade.

	N	DF	N	Saudáveis	P-valor
<b>Colo do fêmur</b>					
DMO, g/cm <sup>2</sup> - Mediana±IQR	41	1.022 ± 0.284	88	1.039 ± 0.221	0.674 <sup>1</sup>
Z-score- Mediana±IQR	41	-0.5 ± 2.3	88	0.15 ± 1.3	0.271 <sup>1</sup>
<b>Total femur</b>					
DMO, g/cm <sup>2</sup> - Mediana±IQR	41	1.022 ± 0.345	88	1.066 ± 0.198	0.764 <sup>1</sup>
Z-score- Mediana±IQR	41	-0.3 ± 2.2	88	0 ± 0.4	0.190 <sup>1</sup>
<b>Lumbar spine</b>					
DMO, g/cm <sup>2</sup> -Mediana±IQR	41	1.136 ± 0.405	88	1.175 ± 0.179	0.888 <sup>1</sup>
Z-score- Mediana±IQR	41	-0.6 ± 3.1	88	-0.3 ± 1.7	0.674 <sup>1</sup>
FMI (Kg/m <sup>2</sup> ) - Mediana±IQR	41	2.932 ± 3.360	88	6.735 ± 3.356	0.107 <sup>1</sup>
ALM/height <sup>2</sup> , Kg/m <sup>2</sup> - Media±DP	41	7.354 ± 0.812	88	8.378 ± 1.299	0.579 <sup>2</sup>
ALM/BMI- Media±DP	41	1.080 ± 0.136	88	1.067 ± 0.193	0.193 <sup>2</sup>

1: Mann-Whitney U test; 2: Student-T test; DMO: densidade mineral óssea; ALM: massa magra apendicular; IMC: índice de massa corporea; FMI: índice de massa gorda

Na Tabela 6 encontram-se os pacientes e o grupo controle classificados conforme o diagnóstico de massa óssea, massa magra, pelos critérios de Baumgartner e FNIH, e massa gorda, pelo critério de NHANES III. Os pacientes com doença falciforme apresentaram mais diagnóstico de baixa massa óssea, baixa massa magra e baixa massa gorda.



Table 6. Massa óssea, massa magra e massa gorda entre em homens com DF e controles saudáveis pareados por idade.

	Doença Falciforme		Saudáveis		p-valor <sup>1</sup>
	N=41	%	N=88	%	
<b>Massa óssea</b>					
Baixa – DMO Z-score $\leq$ -2	13	31.7	5	5.7	<0.001
Normal - DMO Z-score > -2	28	68.3	83	94.3	
<b>Massa Magra – critério de Baumgartner</b>					
Baixa – ALM/altura <sup>2</sup> < 7 kg/m <sup>2</sup>	15	36.6	13	14.8	0.010
Normal - ALM/altura <sup>2</sup> $\geq$ 7 kg/m <sup>2</sup>	26	63.4	75	85.2	
<b>Massa Magra – critério FNIH</b>					
Baixa – ALM/IMC < 0.789	0	0	6	6.8	0.175
Normal – ALM/IMC $\geq$ 0.789	41	100	82	93.2	
<b>Massa Gorda</b>					
Baixa	21	51.2	3	3.4	<0.001
Normal	13	31.7	31	35.2	
Alta	7	17.1	54	61.4	

1: Fisher's exact test; DMO:densidade mineral óssea; ALM: massa magra apendicular; IMC: índice de massa corpórea; FMI: índice de massa gorda

As características clínicas dos pacientes com doença falciforme de acordo com o diagnóstico de massa óssea estão listadas na tabela 7. Os grupos independentes do diagnóstico de massa óssea não diferiram quanto às características clínicas.

Tabela 7. Associação entre massa óssea e características clínicas em pacientes com DF.

Características clínicas	Baixa massa óssea para idade N=13		Massa óssea normal para idade N=28		p-valor <sup>1</sup>
	N	(%)	N	(%)	
Genótipo, N (%)					
SS	10	(76.9)	21	(75)	1
Sβ	3	(23.1)	7	(25)	
Complicações agudas, N (%)					
Crise algica	8	(61.5)	19	(67.9)	0.733
STA	7	(53.8)	14	(50)	1
Priapismo	2	(15.4)	10	(35.7)	0.275
AVC	1	(7.7)	2	(7.1)	1
Complicações crônicas, N (%)					
Osteonecrose	1	(7.7)	7	(25)	0.398
Hipertensão Pulmonar	1	(7.7)	8	(28.6)	0.228
Retinopatia,	0	0	7	(25)	0.076
Microalbuminúria	6	(42.2)	10	(35.7)	0.731
Uso de Hidroxiureia, N (%)	6	(42.2)	21	(75)	0.088

1: Fisher's exact test. STA: síndrome torácica aguda; AVC: acidente vascular cerebral

As características clínicas dos pacientes com doença falciforme de acordo com o diagnóstico de massa magra, segundo os critérios de Baumgartner, estão na tabela 8. Observou-se maior frequência de AVC em pacientes com massa magra baixa. Por outro lado, a retinopatia predominou nos pacientes com massa magra normal.

Tabela 8. Associação entre massa magra, pelo critério de Baumgartner, e características clínicas em pacientes com DF

Características clínicas	ALM/altura <sup>2</sup>	ALM/altura <sup>2</sup>	p-valor <sup>1</sup>
	<7kg/m <sup>2</sup>	>7kg/m <sup>2</sup>	
	N=15	N=26	
Genótipo, N (%)			
SS	13 (86.7)	22 (84.6)	1
Sβ	2 (13.3)	4 (15.4)	
Complicações agudas, N (%)			
Crise algica	9 (60)	18 (69.2)	0.734
STA	6 (40)	15 (57.7)	0.341
Priapismo	3 (20)	9 (34.6)	0.480
AVC	3 (20)	0	0.043
Complicações crônicas, N (%)			
Osteonecrose	3 (30)	5 (19.2)	1
Hipertensão Pulmonar	2 (13.3)	7 (26.9)	0.445
Retinopatia	0	7 (26.9)	0.035
Microalbuminúria	4 (26.7)	12 (46.2)	0.322
Uso de Hidroxiureia, N (%)	9 60	19 (73.1)	0.491

1: Fisher's exact test. STA: síndrome torácica aguda; AVC: acidente vascular cerebral

Considerando as características clínicas e diagnóstico de massa gorda (tabela 9), os dados apontam uma associação positiva entre uso de hidroxiureia e massa gorda. Quanto maior o uso de hidroxiureia maior a quantidade de pacientes com massa gorda elevada.

Tabela 9. Associação entre massa gorda, pelo critério do NHANES III, e características clínicas em pacientes com DF

Características clínicas	Baixa massa gorda	Massa gorda normal	Massa gorda elevada	P-valor <sup>1</sup>
	N=21	N=13	N=7	
Genótipo, N (%)				
SS	19 (90.5)	12 (92.3)	4 (57.1)	0.075
Sβ	2 (9.5)	1 (7.7)	3 (42.9)	
Complicações agudas, N (%)				
Crise algica	12 (57.1)	10 (76.9)	5 (71.4)	0.507
STA	10 (47.6)	8 (61.54)	3 (42.86)	0.698
Priapismo	5 (23.8)	5 (38.46)	2 (28.57)	0.735
AVC	2 (9.5)	1 (7.7)	0	1
Complicações crônicas, N (%)				
Osteonecrose	4 (19.1)	1 (7.7)	3 (42.7)	0.172
Hipertensão Pulmonar	3 (14.3)	2 (15.4)	4 (57.1)	0.076
Retinopatia	2 (9.5)	2 (15.4)	3 (42.7)	0.134
Microalbuminúria	9 (42.9)	3 (23.1)	4 (57.1)	0.269
Uso de Hidroxiureia, N (%)	10 (47.6)	11 (84.6)	7 (100)	0.010

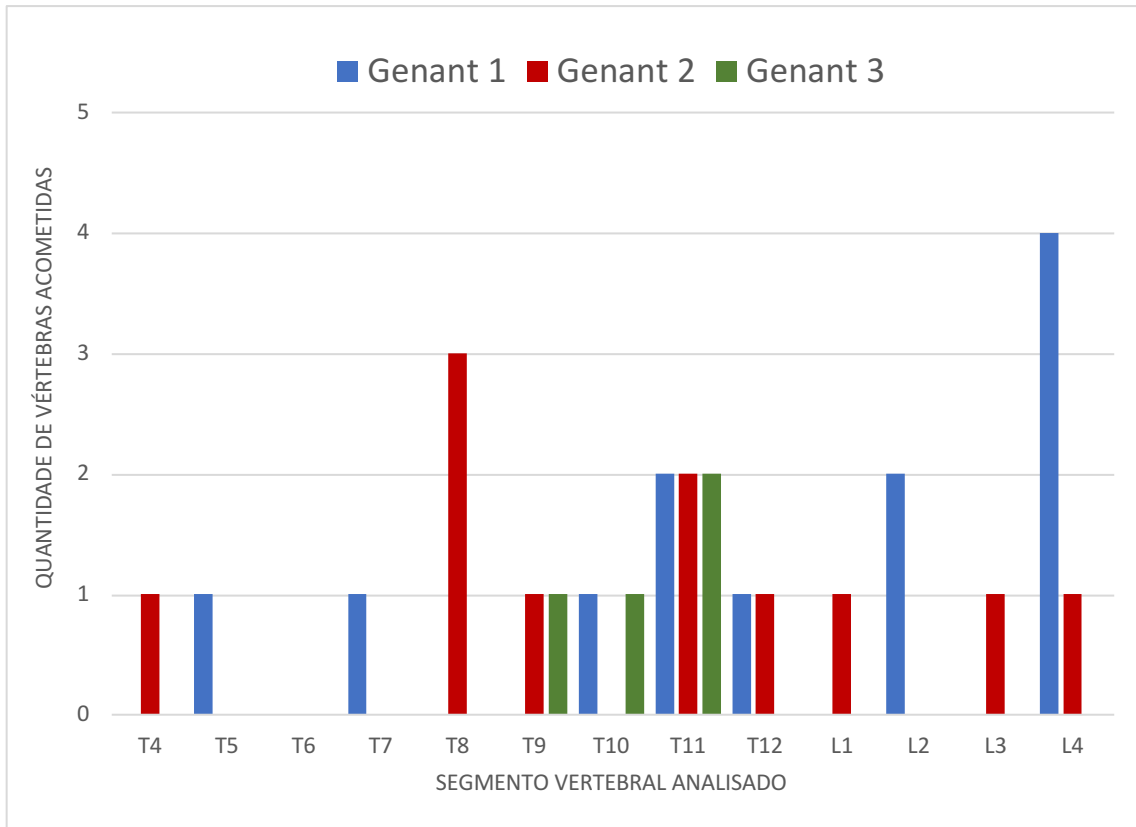
1: Fisher's exact test. STA: síndrome torácica aguda; AVC: acidente vascular cerebral

Não foi possível obter dados das análises radiográficas de 6 pacientes com DF. 494 vértebras de T4 a L4 foram visualizadas adequadamente na radiografia da coluna torácica e lombar em homens com anemia falciforme. As deformidades vertebrais osteoporóticas morfométricas (graus Genant 1–3, N = 27) foram detectadas em 15 pacientes (39,5%), enquanto a fratura vertebral (definida como graus Genant 2–3, N = 15) foi identificada em 8 pacientes (21%) (Figura 2). A maioria das deformidades vertebrais (graus 1–3 de Genant) e fraturas vertebrais (graus 2–3 de Genant) ocorreu no segmento torácico (66,7% e 33,3%, respectivamente). O segmento da coluna T8-T12 concentrou a grande maioria de todas as anormalidades radiográficas vertebrais (55,5%).

Não foi observada associação entre quaisquer característica clínica para o desfecho fratura vertebral. A análise de regressão logística não foi realizada para avaliar fatores preditivos de fratura, pois não foi observada associação entre

o grupo de fraturas e nenhum parâmetro clínico. Não houve associação entre densidade óssea ou composição corporal com a presença de fratura vertebral.

Figura 2. Deformidades morfométricas osteoporóticas por cada segmento vertebral em pacientes com DF.



Na tabela 10 estão as características clínicas de acordo com a presença ou não de fratura vertebral dos pacientes com doença falciforme. Não se observou associação entre quaisquer característica clínica para o desfecho fratura vertebral. A análise de regressão logística não foi realizada para avaliação de fatores preditivos de fratura, pois não se observou associação no grupo de fratura com nenhum parâmetro clínico.

Tabela 10. Associação entre fratura vertebral e características clínicas em pacientes com DF.

Características clínicas	Fratura Vertebral		p-valor <sup>1</sup>
	Sim N=8	Não N=30	
Genótipo, N (%)			
SS	6 (75.0)	24 (80.0)	1
S $\beta$	2 (25.0)	6 (20.0)	
Complicações agudas, N (%)			
Crise algica	6 (75.0)	19 (63.3)	0.689
STA	2 (25.0)	14 (46.7)	0.426
Priapismo	3 (37.5)	9 (30.0)	0.689
AVC	1 (12.5)	3 (10.0)	1
Complicações crônicas, N (%)			
Osteonecrose	3 (37.5)	6 (20.0)	0.363
Hipertensão Pulmonar	2 (25.0)	8 (26.7)	1
Retinopatia	2 (25.0)	4 (13.3)	0.587
Microalbuminúria	3 (37.5.)	10 (33.3)	1
Uso de Hidroxiureia, N (%)	5 (62.5)	20 (66.7)	1

1: Fisher's exact test; STA: síndrome torácica aguda; AVC: acidente vascular cerebral

A densidade óssea e composição corporal dos pacientes com doença falciforme com ou sem fratura encontram-se na Tabela 11. Não houve diferença significativa entre os dois grupos para nenhum dos parâmetros analisados.

Tabela 11. Associação entre fratura vertebral e diagnóstico de massa óssea, massa magra e massa gorda em pacientes com DF.

	Fraturas Vertebrais		P <sup>1</sup>
	Sim	Não	
	N=7	N=29	
<b>Massa óssea, N(%)</b>			
Baixa – DMO Z-score $\leq$ -2	1 (2.8)	11 (30.5)	0.383
Normal - DMO Z-score $>$ -2	6 (16.7)	18 (50)	
<b>Massa Magra – critério de Baumgartner, N (%)</b>			
Baixa – ALM/altura <sup>2</sup> $<$ 7 kg/m <sup>2</sup>	4 (11.1)	10 (27.8)	0.394
Normal - ALM/altura <sup>2</sup> $\geq$ 7 kg/m <sup>2</sup>	3 (12.2)	19 (52.8)	
<b>Massa Magra – critério FNIH, N (%)</b>			
Baixa – ALM/IMC $<$ 0.789	0	0	1
Normal – ALM/IMC $\geq$ 0.789	7 (19.4)	29 (80.6)	
<b>Massa Gorda, N (%)</b>			
Baixa	5 (13.9)	12 (33.3)	0.085
Normal	0	12 (33.3)	
Alta	2 (5.6)	5 (13.9)	

1: Fisher's exact test;

## 6. DISCUSSÃO

Usando a definição atual para homens com menos de 50 anos (escore  $Z \leq -2,0$ )(SHUHART et al., 2019), observamos que a prevalência de baixa massa óssea em homens jovens com DF é de cerca de 31.7%. Uma notável discrepância é observada nas taxas de baixa massa óssea em pacientes com DF entre os estudos. Miller et al, Sarrai et al e Baldanzi et al relataram prevalência significativamente maior de baixa massa óssea em homens e mulheres de idade semelhante (71,9%, 79,6% e 81,5%, respectivamente) (BALDANZI et al., 2011; MILLER et al., 2006; SARRAI et al., 2007). Osteopenia ou osteoporose densitométrica foi encontrada em cerca de 32% de uma amostra de pacientes com HbS/beta-talassemia (idade média de 40 anos, faixa: 23-70 anos)(VOSKARIDOU et al., 2006) .A maioria dos estudos (BALDANZI et al., 2011; GARADAH et al., 2015; MILLER et al., 2006; SADAT-ALI et al., 2011; SARRAI et al., 2007; VOSKARIDOU et al., 2006) aplicaram os critérios de classificação da OMS para DMO com base no T-score que não é apropriado para ser usado em mulheres na pré-menopausa e homens com menos de 50 anos de idade. Juntamente com as diferenças de idade, etnia e peso corporal, principais determinantes da DMO, o uso de critérios de classificação discrepantes pode ajudar a explicar a diferença nas taxas de prevalência de baixa massa óssea entre as diferentes coortes de pacientes com DF. Usando um critério de classificação baseado no escore Z de DMO corrigido pela altura, Adesina et al relataram uma prevalência de baixa massa óssea em torno de 31% em pacientes com DF em idade mais jovem (6 a 18 anos)(ADESINA et al., 2019). Em outra coorte com idade quase semelhante (7 a 27 anos) também usando uma abordagem baseada em escore Z, foi relatada uma prevalência de baixa massa óssea em torno de 41% (MEEUWES et al., 2013). Usando os critérios de classificação da OMS baseados no T-score, cerca de 43% dos nossos pacientes (dados não publicados) teriam osteopenia ( $-2,5 < T\text{-score} < -1,0$ ) ou osteoporose ( $T\text{-score} \leq -2,5$ ). Provavelmente a utilização inadequada do T-escore pode ter superestimado a prevalência de baixa massa óssea relatada por esses autores.

Até onde sabemos, este é o primeiro estudo a comparar os resultados de DMO e composição corporal entre pacientes adultos do sexo masculino com anemia falciforme e controles saudáveis pareados por idade. Nenhuma diferença



estatisticamente significativa entre os grupos foi encontrada para medições de DMO em todos os sítios do esqueleto. Outra consideração importante é a presença de osteosclerose em pacientes com DF. Massa óssea elevada, definida como um escore Z maior que +2,5, foi encontrada em 15% de uma coorte de 136 pacientes com DF (DE LUNA et al., 2018). Usando a mesma definição de escore Z, seis de 41 (14,6%) dos nossos pacientes tinham alta massa óssea em pelo menos um local do esqueleto. Definindo alta massa óssea como tendo um T-score acima de +1,0 e evidência comprovada de imagem de osteosclerose na radiografia convencional, Voskaridou et al encontraram uma prevalência ainda maior (51%) (VOSKARIDOU et al., 2006).

O fenômeno vaso-oclusivo na DF é sistêmico e tem sido associado não apenas ao infarto de múltiplos órgãos, mas também a um ambiente inflamatório (ALMEIDA; ROBERTS, 2005; BENENSON; PORTER, 2018; KAUSHANSKY et al., 2015). As citocinas inflamatórias podem contribuir para o aumento da reabsorção óssea, como visto em muitas outras doenças inflamatórias crônicas, como artrite reumatóide e espondiloartrite, onde os resultados musculoesqueléticos, como osteoporose e sarcopenia, desempenham um papel significativo na carga da doença (BRIOT et al., 2017; BULTINK et al., 2012). Nenhuma das características clínicas (complicações agudas e crônicas) esteve associada à baixa massa óssea ou baixa massa magra em nossa amostra, exceto os AVCs que foram mais frequentes em pacientes com baixa massa magra. Meeuwes et al, Miller et al, Sarrai et al também não encontraram relação entre as complicações da DF e os parâmetros de DMO (MEEUWES et al., 2013; MILLER et al., 2006; SARRAI et al., 2007). Por outro lado, entre pacientes jovens com DF (7 a 27 anos), Adesina et al relataram que a menor DMO estava associada à osteonecrose do quadril, dor crônica e baixos níveis de hemoglobina (ADESINA et al., 2019). Em nosso presente estudo retrospectivo, dados laboratoriais importantes (nível de hemoglobina, contagem de reticulócitos e nível sérico de lactato desidrogenase), bem como transfusão e necessidade de hospitalização, não foram incluídos nas análises, limitando o poder de nosso estudo para abordar adequadamente a associação de desfechos musculoesqueléticos com estado clínico e gravidade e carga da doença.

Pacientes homocigotos para o alelo  $\beta S$  (anemia falciforme) geralmente apresentam maior gravidade e pior prognóstico do que aqueles que carregam um genótipo heterocigoto (HbS-talassemia). O número de pacientes com HbS-talassemia foi baixo e pode ter contribuído para a falta de associação entre baixa massa óssea ou massa magra e genótipo em nossa coorte. Achados semelhantes foram relatados em um estudo avaliando pacientes com DF na mesma faixa etária (MILLER et al., 2006). Por outro lado, maior prevalência de baixa massa óssea em pacientes homocigotos com DF em comparação com o genótipo heterocigoto foi demonstrada em outras coortes (ADESINA et al., 2019; SARRAI et al., 2007).

O índice de massa esquelética (SMI) proposto por Baumgartner (massa magra apendicular/altura<sup>2</sup>)(JANSSEN et al., 2004), como uma medida da quantidade muscular e um substituto potencial da função muscular, tem sido amplamente utilizado para avaliar a sarcopenia(BAUMGARTNER et al., 1998) . Apesar de uma maior taxa de baixa massa magra em pacientes com DF, o SMI não diferiu significativamente em comparação com controles saudáveis pareados por idade e IMC em nossa coorte. Menor massa magra e massa gorda em pacientes com DF também foram relatadas quando a composição corporal é avaliada por bioimpedância ou medição de dobras cutâneas, técnicas menos precisas que DXA (BARDEN et al., 2002; EKE et al., 2015). O alto gasto energético devido ao aumento da atividade da medula óssea e maior débito cardíaco associado aos efeitos agudos e crônicos dos fenômenos vaso-oclusivos, redução da ingestão nutricional e anorexia são considerados os principais contribuintes para o processo de emagrecimento que leva o baixo teor de massa magra e massa gorda nos pacientes com DF (BOREL et al., 1998; EKE et al., 2015; KOPP-HOOLIHAN et al., 1999). Embora os dados socioeconômicos não tenham sido medidos em nossa amostra, nossos pacientes geralmente são de classes sociais de baixa renda no Brasil com risco potencialmente maior de baixa ingestão de proteínas e outros resultados nutricionais adversos.

A associação das características clínicas com os parâmetros da composição corporal mostrou dados inconsistentes, sem plausibilidade biológica. Maior prevalência de AVC em pacientes com baixa massa magra ou

retinopatia em pacientes com massa magra normal, parecem ter ocorrido ao acaso. O que de fato concluímos sobre a nossa amostra é que foi composta por pacientes graves, onde mais da metade dos pacientes apresentaram STA, 20% hipertensão pulmonar e cerca de 70% faziam uso de hidroxiureia, medicação classicamente ministrada em pacientes graves. Curiosamente, a prevalência de hidroxiureia foi maior nos pacientes com maior massa gorda (Tabelas 8 e 9).

O achado clínico mais frequente em pacientes com DF é dor óssea(NATRAJAN; KUTLAR, 2015) .O infarto ósseo associado a oclusão microvascular ocorre, particularmente, na coluna vertebral onde o fluxo sanguíneo é lento e há baixa concentração relativa de oxigênio, facilitando eventos vaso-oclusivos recorrentes(ALMEIDA; ROBERTS, 2005) . Os pacientes podem desenvolver colapso vertebral devido a osteoporose, infarto local ou hiperplasia de medula(ALMEIDA; ROBERTS, 2005; BRINKER et al., 1998). Em nosso estudo, 21% pacientes apresentaram fraturas vertebrais morfométricas. Na revisão dos prontuários não encontramos registros de fraturas periféricas. Serarslan et al ao avaliarem 100 pacientes com DF com média de idade menor que a nossa amostra, encontraram apenas 2 fraturas vertebrais(SERARSLAN et al., 2010) .De Franceschi et al ao estudarem 71 pacientes com média de idade de 39 anos, utilizando também o método semiquantitativo de Genant, relataram prevalência de fraturas vertebrais duas vezes maior que o nosso estudo(DE FRANCESCHI et al., 2020). No entanto, esses autores incluíram 56% de mulheres e 50% eram caucasianos.

Surpreendentemente, os pacientes com fratura não apresentaram menor densidade óssea que os não fraturados, bem como, os diferentes parâmetros da composição corporal foram semelhantes. Outros autores também observaram falta de associação entre fraturas da coluna e DMO em pacientes com DF(DE FRANCESCHI et al., 2020; SERARSLAN et al., 2010). Após ajuste para idade e densidade óssea da coluna, foi demonstrado que a DMO no colo do fêmur foi um fator de risco independente para fratura vertebral (DE FRANCESCHI et al., 2020). De fato, esses autores identificaram um T-score abaixo de -1,4 como ponto de corte para detectar a presença de fraturas em pacientes com DF(DE FRANCESCHI et al., 2020) . Quanto a relação entre fratura vertebral e composição corporal em pacientes adultos com doença falciforme, este é o

primeiro estudo que procurou relacionar essas alterações. Desta forma, nossos dados são inéditos. Não foi possível determinar os fatores clínicos preditivos de fraturas vertebrais, pois não houve qualquer diferença entre os grupos. É muito importante entender o impacto das fraturas por fragilidade na DF, especialmente levando em consideração o aumento da expectativa de vida que esses pacientes alcançaram com novas estratégias terapêuticas (KAPOOR; LITTLE; PECKER, 2018; ONIMOE; ROTZ, 2020)

Algumas limitações importantes precisam ser apontadas em nosso estudo. Seu desenho transversal e a falta de informações sobre características sociodemográficas (dieta, nível socioeconômico) e clínicas (fraturas não-vertebrais, transfusões e situação de internação ou dados laboratoriais) nos impedem de concluir sobre uma possível associação com desfechos adversos musculoesqueléticos. Em contrapartida, foi um dos poucos estudos a correlacionar massa óssea de pacientes com doença falciforme e fratura vertebral, e o primeiro a fazer essas correlações com dados da composição corporal.

Em conclusão, nossos dados demonstram que pacientes adultos do sexo masculino com DF apresentam aumento da taxa de fratura vertebral e aumento da taxa de outras anormalidades musculoesqueléticas, como baixa massa óssea, baixa massa magra e baixa massa gorda avaliada por DXA. Fraturas vertebrais por fragilidade não foram correlacionadas com parâmetros clínicos nem com DMO ou medidas de composição corporal, sugerindo que outros fatores podem estar implicados. A partir desses dados, concluímos que é necessário fazer a busca ativa de fraturas vertebrais através do estudo radiológico, e talvez o estudo do escore de osso trabecular (TBS) associado a alguns parâmetros laboratoriais possam contribuir para melhor avaliação de risco de fratura desses pacientes. Portanto, estudos futuros são necessários para investigar melhor o impacto das fraturas e da baixa massa magra no prognóstico da DF e para determinar os potenciais fatores de risco e a eficácia da intervenção precoce.

## 7. CONCLUSÕES

- Pacientes com doença falciforme apresentam alta prevalência de baixa densidade óssea, baixa massa magra, baixa massa gorda e fraturas vertebrais morfométricas;
- Os fatores clínicos, densitométricos e os parâmetros da composição corporal não se correlacionaram com a presença de fratura vertebral;
- Os fatores clínicos não se correlacionaram com baixa massa óssea;
- Os fatores clínicos não se correlacionaram com os parâmetros da composição corporal;

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADESINA, O. O. et al. Height-corrected low bone density associates with severe outcomes in sickle cell disease: SCCRIP cohort study results. **Blood advances**, v. 3, n. 9, p. 1476–1488, 14 2019.
- ALMEIDA, A.; ROBERTS, I. Bone involvement in sickle cell disease. **British journal of haematology**, v. 129, n. 4, p. 482–90, 2005.
- ARLET, J.-B. et al. Relationship between vitamin D deficiency and bone fragility in sickle cell disease: a cohort study of 56 adults. **Bone**, v. 52, n. 1, p. 206–11, 2013.
- AZAR, S.; WONG, T. E. Sickle Cell Disease: A Brief Update. **The Medical clinics of North America**, v. 101, n. 2, p. 375–393, 2017.
- BALDANZI, G. et al. Low bone mass density is associated with hemolysis in brazilian patients with sickle cell disease. **Clinics**, v. 66, n. 5, p. 801–805, 2011.
- BARDEN, E. M. et al. Body composition in children with sickle cell disease. **The American journal of clinical nutrition**, v. 76, n. 1, p. 218–25, 2002.
- BAUMGARTNER, R. N. et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. **American journal of epidemiology**, v. 147, n. 8, p. 755–63, 15 1998.
- BEAVERS, K. M. et al. Low relative skeletal muscle mass indicative of sarcopenia is associated with elevations in serum uric acid levels: findings from NHANES III. **The journal of nutrition, health & aging**, v. 13, n. 3, p. 177–82, 2009.
- BENENSON, I.; PORTER, S. Sickle Cell Disease: Bone, Joint, Muscle, and Motor Complications. **Orthopedic nursing**, v. 37, n. 4, p. 221–227, 2018.
- BOREL, M. J. et al. Protein turnover and energy expenditure increase during exogenous nutrient availability in sickle cell disease. **The American journal of clinical nutrition**, v. 68, n. 3, p. 607–14, 1998.
- BRINKER, M. R. et al. Bone mineral density of the lumbar spine and proximal femur is decreased in children with sickle cell anemia. **American journal of orthopedics (Belle Mead, N.J.)**, v. 27, n. 1, p. 43–9, 1998.
- BRIOT, K. et al. Inflammatory diseases and bone fragility. **Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA**, v. 28, n. 12, p. 3301–3314, 2017.
- BUCHOWSKI, M. S. et al. Increased bone turnover is associated with protein and energy metabolism in adolescents with sickle cell anemia. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 280, n. 3, p. E518-27, 2001.
- BUISSON, A. M. et al. Low vitamin D status in children with sickle cell disease. **The Journal of pediatrics**, v. 145, n. 5, p. 622–7, 2004.
- BULTINK, I. E. M. et al. Inflammatory rheumatic disorders and bone. **Current rheumatology reports**, v. 14, n. 3, p. 224–30, 2012.

- CHAPELON, E. et al. Osteopenia and vitamin D deficiency in children with sickle cell disease. **European Journal of Haematology**, v. 83, n. 6, p. 572–578, 2009.
- CRUZ-JENTOFT, A. J. et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. **Age and ageing**, v. 48, n. 1, p. 16–31, 1 2019.
- DE FRANCESCHI, L. et al. Development of Algorithm for Clinical Management of Sickle Cell Bone Disease: Evidence for a Role of Vertebral Fractures in Patient Follow-up. **Journal of clinical medicine**, v. 9, n. 5, 25, 2020.
- DE LUNA, G. et al. High bone mineral density in sickle cell disease: Prevalence and characteristics. **Bone**, v. 110, p. 199–203, 2018.
- EKE, C. B. et al. Bioelectric Impedance Analysis of Body Composition of Children and Adolescents with Sickle Cell Anemia in Enugu, Nigeria. **Pediatric Hematology and Oncology**, v. 32, n. 4, p. 258–268, 19 2015.
- FUNG, E. B. et al. Markers of bone turnover are associated with growth and development in young subjects with sickle cell anemia. **Pediatric blood & cancer**, v. 50, n. 3, p. 620–3, 2008.
- GARADAH, T. S. et al. Predictors of abnormal bone mass density in adult patients with homozygous sickle-cell disease. **Clinical medicine insights. Endocrinology and diabetes**, v. 8, p. 35–40, 2015.
- GARNERO, P.; DELMAS, P. D. Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis. **Endocrinology and metabolism clinics of North America**, v. 27, n. 2, p. 303–23, 1998.
- GENANT, H. K. et al. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. **Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, v. 8, n. 9, p. 1137–48, 1993.
- HOUWING, M. E. et al. Sickle cell disease: Clinical presentation and management of a global health challenge. **Blood reviews**, v. 37, p. 100580, 2019.
- JANSSEN, I. et al. Skeletal muscle cutpoints associated with elevated physical disability risk in older men and women. **American journal of epidemiology**, v. 159, n. 4, p. 413–21, 15 2004.
- JOHNSON, C. S. Sickle-Cell Disease. Em: **International Encyclopedia of Public Health**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 506–512.
- KAPOOR, S.; LITTLE, J. A.; PECKER, L. H. Advances in the Treatment of Sickle Cell Disease. **Mayo Clinic proceedings**, v. 93, n. 12, p. 1810–1824, 2018.
- KAUSHANSKY, K. et al. Editors. Em: **Williams Hematology, 9e**. New York, NY: McGraw-Hill Education, 2015.
- KOPP-HOOLIHAN, L. E. et al. Elevated resting energy expenditure in adolescents with sickle cell anemia. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 195–9, fev. 1999.
- LAL, A. et al. Bone mineral density in children with sickle cell anemia. **Pediatric blood & cancer**, v. 47, n. 7, p. 901–6, 2006.
- LEONARD, M. B. et al. Plasma zinc status, growth, and maturation in children with sickle cell disease. **The Journal of pediatrics**, v. 132, n. 3 Pt 1, p. 467–71, 1998.

- LEWIECKI, E. M. et al. International Society for Clinical Densitometry 2007 Adult and Pediatric Official Positions. **Bone**, v. 43, n. 6, p. 1115–21, 2008.
- MABIALA-BABELA, J. R. et al. [Body composition in Negro African children suffering from sickle cell disease. A mixed cross-sectional longitudinal study in Brazzaville, Congo]. **Bulletin de la Societe de pathologie exotique (1990)**, v. 98, n. 5, p. 394–9, 2005.
- MAGDOFF-FAIRCHILD, B.; SWERDLOW, P. H.; BERTLES, J. F. Intermolecular organization of deoxygenated sickle haemoglobin determined by x-ray diffraction. **Nature**, v. 239, n. 5369, p. 217–9, 22 1972.
- MEEUWES, M. et al. Bone mineral density, growth, pubertal development and other parameters in Brazilian children and young adults with sickle cell anaemia. **Tropical medicine & international health : TM & IH**, v. 18, n. 12, p. 1539–46, 2013.
- MILLER, R. G. et al. High prevalence and correlates of low bone mineral density in young adults with sickle cell disease. **American journal of hematology**, v. 81, n. 4, p. 236–41, 2006.
- MURRAY, R. O. Radiology of Sickle Cell Disease. **Proceedings of the Royal Society of Medicine**, v. 67, n. 10, p. 1071–1072, 1974.
- NATRAJAN, K.; KUTLAR, A. Disorders of Hemoglobin Structure: Sickle Cell Anemia and Related Abnormalities. Em: KAUSHANSKY, K. et al. (Eds.). **Williams Hematology, 9e**. New York, NY: McGraw-Hill Education, 2015.
- NOURAIE, M. et al. Predictors of osteoclast activity in patients with sickle cell disease. **Haematologica**, v. 96, n. 8, p. 1092–8, ago. 2011.
- ONIMOE, G.; ROTZ, S. Sickle cell disease: A primary care update. **Cleveland Clinic journal of medicine**, v. 87, n. 1, p. 19–27, 2020.
- OSUNKWO, I. An update on the recent literature on sickle cell bone disease. **Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity**, v. 20, n. 6, p. 539–46, 2013.
- SADAT-ALI, M. et al. Does high serum iron level induce low bone mass in sickle cell anemia ? **Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine**, v. 24, n. 1, p. 19–22, 2011.
- SARRAI, M. et al. Bone mass density in adults with sickle cell disease. **British journal of haematology**, v. 136, n. 4, p. 666–72, 2007.
- SERARSLAN, Y. et al. Morphometry of the thoracolumbar vertebrae in sickle cell disease. **Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia**, v. 17, n. 2, p. 182–6, 2010.
- SHUHART, C. R. et al. Executive Summary of the 2019 ISCD Position Development Conference on Monitoring Treatment, DXA Cross-calibration and Least Significant Change, Spinal Cord Injury, Peri-prosthetic and Orthopedic Bone Health, Transgender Medicine, and Pediatrics. **Journal of clinical densitometry : the official journal of the International Society for Clinical Densitometry**, v. 22, n. 4, p. 453–471, 2019.
- SINGHAL, A. et al. Resting metabolic rate in homozygous sickle cell disease. **The American journal of clinical nutrition**, v. 57, n. 1, p. 32–4, 1993.



- SMITH, W. R. et al. Daily assessment of pain in adults with sickle cell disease. **Annals of internal medicine**, v. 148, n. 2, p. 94–101, 15 2008.
- SOUZA, M. DAS G. B. et al. Body composition parameters in healthy Brazilian women differ from white, black, and Hispanic American women reference range. **Journal of clinical densitometry : the official journal of the International Society for Clinical Densitometry**, v. 16, n. 3, p. 360–367, 2013.
- SOYKA, L. A.; FAIRFIELD, W. P.; KLIBANSKI, A. Hormonal Determinants and Disorders of Peak Bone Mass in Children<sup>1</sup>. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 85, n. 11, p. 3951–3963, 2000.
- STUDENSKI, S. A. et al. The FNIIH sarcopenia project: rationale, study description, conference recommendations, and final estimates. **The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences**, v. 69, n. 5, p. 547–58, 2014.
- TELEN, M. J.; MALIK, P.; VERCELLOTTI, G. M. Therapeutic strategies for sickle cell disease: towards a multi-agent approach. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 18, n. 2, p. 139–158, 2019.
- TSAY, J. et al. Bone loss caused by iron overload in a murine model: importance of oxidative stress. **Blood**, v. 116, n. 14, p. 2582–2589, 2010.
- VICHINSKY, E. et al. Comparison of organ dysfunction in transfused patients with SCD or beta thalassemia. **American journal of hematology**, v. 80, n. 1, p. 70–4, 2005.
- VOSKARIDOU, E. et al. Osteoporosis and osteosclerosis in sickle cell/beta-thalassemia: the role of the RANKL/osteoprotegerin axis. **Haematologica**, v. 91, n. 6, p. 813–6, 2006.
- WOODS, K. F. et al. Body composition in women with sickle cell disease. **Ethnicity & disease**, v. 11, n. 1, p. 30–5, 2001.

## **ARTIGO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO**

**Vertebral fractures and low lean mass in young men with sickle cell disease: lack of association with bone mineral density and clinical characteristics**

Pedro Paulo de Alcantara Pedro<sup>1</sup>, Marcelo de Medeiros Pinheiro<sup>1</sup>, Charlles Helden de Moura Castro<sup>1</sup>, Lucila Macedo Gonçalves<sup>2</sup>, Maria Stella Figueiredo<sup>2</sup>, Vera Lucia Szejnfeld<sup>1</sup>

1 Rheumatology Division, Federal University of São Paulo/Paulista School of Medicine (Unifesp/EPM). Rua: Botucatu, 740, 3o andar Vila Clementino, CEP, 04023-900, São Paulo, SP, Brazil.

2 Hematology Division, Federal University of São Paulo/Paulista School of Medicine (Unifesp/EPM). Rua: Diogo de Faria, 824, 3o andar Vila Clementino, CEP, 04037-002, São Paulo, SP, Brazil.

Correspondence: Pedro Paulo de Alcantara Pedro, MD, E-mail: pedro.pedro@unifesp.com

The authors declare no conflict of interest.

Authors Contributions: P.P.A.P, M.M.P, C.H.M.C and V.L.S contributed to the conception and design of the study; all authors contributed to the analysis and interpretation of the data. All authors were involved in critically revising the manuscript, approved the final version to be published, and agree to be accountable for the accuracy and integrity of the work.

Funding: This study received no funding.

## ABSTRACT

Introduction: The most common hemoglobinopathy around the world, Sickle cell disease (SCD) is often associated with adverse musculoskeletal outcomes and low bone mass. Objective: To evaluate bone mineral density (BMD), body composition parameters and fragility fractures rate in men with SCD and investigate its potential association clinical parameters. Methodology: A total of 44 men with SCD ( $29.5 \pm 12$ ) and 88 healthy controls ( $27.7 \pm 6$ ) matched for age were evaluated. Morphometric low-impact vertebral fractures were assessed using conventional spine X-rays, while bone mineral density (BMD) and body composition parameters were measured by dual X-ray absorptiometry (DXA). Results: Men with SCD had significantly higher rates of low bone mass (31.7% vs 5.7%;  $P < 0.001$ ), low lean mass (36.6% vs 14.78%;  $p = 0.010$ ) and low fat mass (51.2% vs 3.4%;  $p < 0.001$ ) when compared to their healthy controls. Morphometric grades 15 vertebral fractures were observed in 21% of the SCD patients. Neither densitometric parameters nor clinical characteristics were significantly associated with vertebral fracture. Conclusion: Men with SCD present high rates of vertebral fractures, low bone, low lean and low fat mass as compared to age-matched healthy controls. No clinical characteristic or densitometric variable was significantly associated with vertebral fracture.

KEYWORDS: sickle cell disease; osteoporosis; body composition; vertebral fracture

## INTRODUCTION

Sickle cell disease (SCD) is a genetic disease phenotypically characterized by chronic hemolytic anemia and ischemic episodes of vaso-occlusion that result in multiple acute and chronic complications and progressive organ failure (ALMEIDA; ROBERTS, 2005; BENENSON; PORTER, 2018; HOUWING et al., 2019; KAUSHANSKY et al., 2015). Although osteoarticular complications have not been proven to directly contribute to mortality, they reduce quality of life and significantly increase disease burden. Low bone mass, osteoporosis and a high prevalence of fragility fractures have been recognized as relevant adverse musculoskeletal outcomes in patients with SCD (DE FRANCESCHI et al., 2020a).

The mechanisms leading to bone abnormalities in patients with SCD are not fully understood, although medullary hyperplasia has been considered an important pathogenic player for bone complication in these patients, as it has also been shown for patients with thalassemia (ALMEIDA; ROBERTS, 2005; BRINKER et al., 1998). End-arterial thromboses leading to tissue hypoxia and osteonecrosis and chronic hemolysis with consequent marrow hyperplasia and increased erythropoiesis produces, trabecular network reduction and osteopenia (BRINKER et al., 1998). The presence of traditional risk factors for osteoporosis, including age, low body weight, estrogen, or androgen deficiency, sedentarism and tobacco may also contribute to osteoporosis and fragility fractures in SCD patients (CUMMINGS et al., 1995; KELEPOURIS et al., 1995). Only a few studies have evaluated musculoskeletal outcomes in adults with SCD, particularly male patients (DE FRANCESCHI et al., 2020; MEEUWES et al., 2013; SERARSLAN et al., 2010). With a significant improvement in life expectancy associated with early diagnosis and newer therapeutic approaches, it is anticipated that the risk for fragility fractures and sarcopenia will increase in this population. In this study we aimed at evaluating vertebral morphometric fractures, BMD and body composition parameters in men with SCD and determine the prevalence of osteoporotic spine fractures, low bone mass and low lean mass. Potential association of musculoskeletal outcomes with clinical characteristics were also investigated.

## MATERIAL AND METHODS

### SCD patients and healthy controls

A retrospective analysis of male patients with a diagnosis of homozygous or heterozygous SCD was carried out. Patients followed at the Hereditary Anemia Outpatient Clinics of the Hematology Division at UNIFESP/EPM were from January 2013 to December 2014 were enrolled

in the present study. SCD diagnosis was established by high-performance liquid chromatography. Patients with chronic kidney disease (GFR  $\leq$ 30 ml/min) and those in use of osteoporosis medication (including bisphosphonates, calcium and vitamin D supplementation) or systemic glucocorticoid were excluded. Healthy Brazilian men from our reference BMD and body composition database matched for age were used as controls. Demographic and anthropometric variables were collected, and clinical characteristics were revised from medical charts. Clinical variables included genotype, the presence of acute and chronic complications, as well as the use of hydroxyurea.

#### Vertebral fracture assessment

Antero-posterior and lateral plain radiographs of the thoracic and lumbar spine were systematically performed to survey for vertebral fractures. Vertebral fractures were classified using Genant semiquantitative (SQ) approach (GENANT et al., 1993). Each antero-posterior and lateral plain radiographs of the thoracic and lumbar spine image was inspected visually by one trained clinician (M.M.P.) to decide whether it contained a fracture in any of the visualized vertebrae. It was assigned a grade based on the Genant SQ scale, where grade 1 (mild) fracture is a reduction in vertebral height of 20–25%, grade 2 (moderate) is a reduction of 26–40%, and grade 3 (severe) is a reduction of more than 40%. Spine abnormalities Genant grades 2 and 3 were considered as vertebral fractures.

#### BMD and body composition measurements

BMD was determined by a DPX MD+ equipment (GE – Lunar DPX Medical Systems Radiation Corporation, Madison, WI, USA). The DXA scans were obtained by standard procedures according to the manufacturer and the analysis of lumbar spine (L1-L4), femoral neck and total femur BMD followed international recommendations (LEWIECKI et al., 2008). All BMD measurements were carried out by one experienced technician with daily quality control using a Lunar phantom, as instructed by the manufacturer. Fractured lumbar vertebrae were excluded from BMD measurement. The phantom precision expressed as the coefficient of variation (CV) was 0.06%.

Body composition parameters included: appendicular lean mass (ALM) obtained by the sum of lean mass of arms and legs, and body fat (BF) both in kilograms and percentage. From the raw data obtained for ALM, skeletal mass index (SMI) was calculated, according to previously proposed model ( $SMI = ALM/height^2$ ) (BAUMGARTNER et al., 1998). Accordingly, fat mass index (FMI) was calculated from BF ( $FMI = BF/height^2$ ). Bone densitometry precision expressed as the root mean square of the CV for lumbar spine, and total femur BMD, BF percentage, BF in grams,

and ALM were 2%, 3%, 1.62%, 1.53% and 1.64%, respectively, as previously published (SOUSA et al., 2013). The same examiner (M.M.P.) performed the analysis of all DXA scans.

Based on the International Society of Clinical Densitometry 2019's Position Development Conference (SHUHART et al., 2019) low bone mass was defined as a Z-score  $\leq -2$ . Low lean mass definitions according to both Baumgartner's (JANSSEN et al., 2004; WANG et al., 1989) and the FNIH's criteria (Foundation for the National Institutes of Health Biomarkers Consortium Sarcopenia Project) (STUDENSKI et al., 2014) were used. According to Baumgartner's criteria a SMI ( $ALM/height^2$ )  $< 7$  Kg/m<sup>2</sup> defines low lean mass in men (CRUZ-JENTOFT et al., 2019). Using ALM adjusted for BMI, the FNIH defines low lean mass as values  $< 0.789$  (STUDENSKI et al., 2014), Fat mass index (FMI) reference values proposed by NHANES III (3-6 Kg/m<sup>2</sup>) (BEAVERS et al., 2009) were used in this study.

### Statistical analysis

Anthropometric data, body composition and BMD parameters were expressed as median (IQR) or mean (standard deviation), while genotype, clinical characteristics and vertebral fractures were expressed as number (N) and percentage (%). Student's t-test and Mann-Whitney U test were applied to compare continuous variables between patients with SCD and controls. We assessed data normality on continuous variables by using the Shapiro Wilk test. For categorical variables, we used Fisher's exact associations test. For all tests, significance level was set as  $P \leq 0.05$ . Analyses were performed using the SAS statistical software version 9.4.

## **RESULTS**

A total of 44 men with SCD ( $29.5 \pm 12$ ) and 88 healthy controls matched by age were included in the present study. Anthropometric variables and clinical characteristics of patients with SCD are shown in Table 1. Patients with SCD were  $29.15 \pm 12$  years-old on average with a predominance of non-Caucasian ethnicity. Most of the patients were homozygous SS (85.4%) with pain crisis (65.8%) and acute chest syndrome (51.2%) as the most prevalent acute complications. Microalbuminuria (39%) was the most frequent chronic complication reported in the sample. About 68.3% of the patients reported hydroxyurea use. Healthy controls were matched for age and height. On the other hand, weight and BMI were significantly lower in men with SCD as compared to their controls.

BMD measurements and body composition parameters in SCD men and their healthy age-matched controls are shown in Table 2. Although BMD measurements at the femoral neck, total femur and lumbar spine in SCD were lower than controls, they did not differ significantly.

Table 2 also demonstrates that appendicular lean mass adjusted for height as proposed by Baumgartner and appendicular lean mass adjusted for BMI (as recommended by the FNIIH group), both did not differ significantly between the groups. FMI was lower in SCD patients, but did not differ significantly in the age-matched healthy controls.

Table 3 shows the frequency of low bone mass, low lean mass (using both Baumgartner and FNIIH's criteria) as well as fat mass classification in the study sample. Low bone mass was more often in men with SCD than in the age-matched healthy controls (31.7% vs 5.7%;  $P < 0.001$ ). Using Baumgartner's definition, men with SCD had significantly higher rate of low lean mass as compared to the healthy controls (36.6% vs 14.8%;  $P = 0.010$ ). On the other hand, the frequency of low lean mass in SCD men did not differ significantly from that observed in the healthy controls when the FNIIH criteria was used. The data also showed that low fat mass was significantly more prevalent among men with SCD than in their controls. Considering the clinical characteristics and diagnosis of low, normal or high fat mass, the data indicated a positive association between the use of hydroxyurea and fat mass. The greater the use of hydroxyurea, the greater the number of patients with high fat mass (Table 4).

Fifteen vertebral fractures were identified in the 38 patients evaluated (Figure 1). Of these, 7 were involved of at least one segment, with the T11 vertebra being the most affected. No association was observed between any clinical characteristics for the vertebral fracture outcome. Logistic regression analysis was not performed to assess fracture predictive factors, as no association was observed between the fracture group and any clinical parameter. There was no association between bone density or body composition with the presence of vertebral fracture.

A total of 494 vertebrae from T4–L4 were adequately visualized on thoracic and lumbar spine x-ray in SCD men. After exclusion of these nonfracture deformities, morphometric osteoporotic vertebral deformities (Genant grades 1–3,  $N = 27$ ) were detected in 15 patients (39.5%) while vertebral fracture (defined as Genant grades 2–3,  $N = 15$ ) was identified in 8 patients (21%). Most of the vertebral deformities (Genant grades 1–3) and vertebral fractures (Genant grades 2–3) occurred in the thoracic segment (66.7% and 33.3%, respectively). The spine segment T8–T12 concentrated the great majority of all vertebral radiographic abnormalities (55.5%).

## DISCUSSION

Using the current definition for males younger than age 50 years-old ( $Z\text{-score} \leq -2.0$ ) (SHUHART et al., 2019), we have observed that the prevalence of low bone mass in young men with SCD is about 31%. A remarkable discrepancy is observed on low bone mass rates in SCD patients across studies. Miller et al, Sarrai et al and Baldanzi et al have reported significantly higher prevalence of low bone mass in men and women of similar age (71.9%, 79.6% and 81.5%, respectively)(BALDANZI et al., 2011; MILLER et al., 2006; SARRAI et al., 2007). Densitometric osteopenia or osteoporosis was found in about 32% of a sample of stable patients with HbS/beta-thalassemia (median age 40 years, range: 23-70 years) (VOSKARIDOU et al., 2006). Most of the studies (BALDANZI et al., 2011; GARADAH et al., 2015; MILLER et al., 2006; SADAT-ALI et al., 2011; SARRAI et al., 2007; VOSKARIDOU et al., 2006) have applied the WHO classification criteria for BMD based on T-score which is not appropriate to be used in premenopausal women and men below 50 years of age. Together with differences in age, ethnicity and body weight, main determinants for BMD, the use of discrepant classification criteria might help explaining the difference in prevalence rates for low bone mass across the different cohorts of SCD patients. Using a classification criterion based on height-corrected BMD Z-score, Adesina et al reported a prevalence of low bone mass around 31% in SCD patients at younger age (6 to 18 years) (ADESINA et al., 2019). In another cohort with almost similar age (7 to 27 years) also using a Z-score-based approach, a low bone mass prevalence around 41% has been reported (MEEUWES et al., 2013). Using WHO classification criteria based on T-score around 43% of our patients would have osteopenia ( $-2.5 < T\text{-score} < -1.0$ ) or osteoporosis ( $T\text{-score} \leq -2.5$ ). To our knowledge, this is the first study to compare BMD and body composition outcomes between adult male patients with SCD and age-matched healthy controls. No statically significant difference between groups was found for BMD measurements at all skeletal sites.

Another important consideration is the presence of osteosclerosis in patients with SCD. High bone mass, defined as a Z-score higher than +2.5 has been found in 15% of a cohort of 136 patients with SCD (DE LUNA et al., 2018). Using the same Z-score definition, six out of 41 (14.6%) of our patients had high bone mass at least one skeletal site. Defining high bone mass as having a T-score above +1.0 and proven evidence of osteosclerosis imaging at conventional radiography, Voskaridou et al have found an even higher prevalence (51%) (VOSKARIDOU et al., 2006).

The vaso-occlusive phenomena in SCD is systemic and has been associated not only with multi-organ infarction but also with an inflammatory environment (ALMEIDA; ROBERTS, 2005; BENENSON; PORTER, 2018; KAUSHANSKY et al., 2015). Inflammatory cytokines may contribute to



increased bone resorption as seen in many other chronic inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis and spondyloarthritis where musculoskeletal outcomes such as osteoporosis and sarcopenia play a significant role in disease burden (BRIOT et al., 2017; BULTINK et al., 2012).

None of the clinical characteristics (acute and chronic complications) were associated with low bone mass or low lean mass in our sample, except strokes that were more often in low lean mass patients. Meeuwes et al, Miller et al, Sarrai et al also found no relation between SCD complications and BMD parameters (MEEUWES et al., 2013; MILLER et al., 2006; SARRAI et al., 2007). On the other hand, among young SCD patients (7 to 27 years-old), Adesina et al reported that lower BMD was associated with hip osteonecrosis, chronic pain and low hemoglobin levels (ADESINA et al., 2019). In our present retrospective study, Important laboratory data (hemoglobin level, reticulocyte count and serum lactate dehydrogenase level) as well as transfusion and hospitalization need were not included in the analyses, limiting the power of our study to adequately address the association of musculoskeletal outcomes with clinical status and disease severity and burden.

Patients who are homozygous for the  $\beta^S$  allele (sickle cell anaemia) usually have higher severity and worse prognosis than those who carry a heterozygous genotype (HbS $\beta$ -thalassaemia). The number of patients with HbS $\beta$ -thalassaemia was low and might have contributed to the lack of association between low bone or lean mass and genotype in our cohort. Similar findings have been reported in a study evaluating SCD patients in the same age-range (MILLER et al., 2006). Conversely, higher prevalence of low bone mass in SCD homozygous patients as compared to the heterozygous genotype has been demonstrated in other cohorts (ADESINA et al., 2019; SARRAI et al., 2007).

Skeletal mass index (SMI) as proposed by Baumgartener (appendicular lean mass/height<sup>2</sup>)(JANSSEN et al., 2004), as a measure for muscle quantity and a potential surrogate for muscle function, has been widely used to evaluate sarcopenia (BAUMGARTNER et al., 1998). Even with lower SMI in SCD patients it did not significantly compared to age-matched healthy controls in our cohort, although there was a higher prevalence rate of low lean mass. Lower lean and fat mass in SCD patients have also been reported when body composition is assessed by bioimpedance or skinfold measurement, techniques less precise than DXA (BARDEN et al., 2002; EKE et al., 2015). High-energy expenditure due to increased bone marrow activity and higher cardiac output associated with the acute and chronic effects of the vaso-occlusive phenomena, reduced nutritional intake and anorexia are thought to be major contributors for the wasting process that leads to low lean and fat mass in SCD patients (BOREL et al., 1998; EKE et al., 2015;

KOPP-HOOLIHAN et al., 1999). Even though socioeconomic data was not measured in our sample, our patients are usually from the low-income social statuses in Brazil with potentially higher risk for low protein intake and other nutritional adverse outcomes.

The association of clinical characteristics with body composition parameters (Table 4) showed inconsistent data, without biological plausibility. Higher prevalence of stroke in patients with low lean mass or retinopathy in patients with normal lean mass, seem to have occurred by chance. What we concluded about our sample is that it was composed of critically ill patients, where more than half of the patients had ATS, 20% had pulmonary hypertension and about 70% were using hydroxyurea, a medication classically administered to critically ill patients. Interestingly, the prevalence of hydroxyurea was higher in patients with higher fat mass (Table 4).

Bone pain is the most frequent clinical feature in patients with SCD (KAUSHANSKY et al., 2015). Bone infarction associated with microvascular occlusion occurs, particularly, in the spine where blood flow is slow with low relative oxygen concentration, leading to recurrent vaso-occlusive events (ALMEIDA; ROBERTS, 2005). Patients may develop vertebral collapse due to osteoporosis, local infarction or spinal cord hyperplasia (ALMEIDA; ROBERTS, 2005; BRINKER et al., 1998). A high rate of morphometric vertebral fractures (21%) was observed in our study, although no non-vertebral fractures were found in medical chart review. Serarslan et al have found only 2 vertebral fractures in 100 young ( $16.6 \pm 7.1$  years-old) patients with homozygous (SS) SCD (SERARSLAN et al., 2010). Using SQ Genant's method, a rate of vertebral fracture similar to ours has been reported in 71 patients with SCD (mean age 39 years-old, 56% women and 50% Caucasian).

BMD and body composition parameters did not differ significantly between patients with vertebral fracture and those without (Table 5). Other authors have also observed a lack of association between spine fractures and BMD in SCD patients (DE FRANCESCHI et al., 2020; SERARSLAN et al., 2010). After adjusting for age and bone density of the spine, it has been demonstrated that BMD at the femoral neck was an independent risk factor for vertebral fracture (DE FRANCESCHI et al., 2020). In fact, these authors identified a T-score below -1.4 as the cutoff for detecting the presence of fractures in patients with SCD (DE FRANCESCHI et al., 2020). It is very important to understand the impact of fragility fractures on SCD especially taking into consideration the increase in life expectancy these patients have achieved with newer therapeutic strategies (KAPOOR; LITTLE; PECKER, 2018; ONIMO; ROTZ, 2020)

Some important limitations need to be point out in our study. Its cross-sectional design and the lack of information on sociodemographic and clinical characteristics (transfusions and hospitalization status or laboratory data) preclude us from conclusion about potential association with musculoskeletal adverse outcomes.

In conclusion, our data demonstrate that adult male patients with SCD present increased rate of vertebral fracture and increased rate of other musculoskeletal abnormalities such as low bone mass, low lean and low fat mass as assessed by DXA. Fragility vertebral fractures were not correlated with clinical parameters nor with BMD or body composition measurements, suggesting that other factors might be implicated. Future studies are needed to further investigate the impact of fractures and low lean mass on SCD prognosis and to determine potential risk factors and the efficacy of early intervention.

Table 1. Anthropometric variables and clinical characteristics in men with SCD assisted at the Hereditary Anemia Outpatient Clinics - Hematology Division at UNIFESP/EPM from January 2013 to December 2014 and healthy age-matched controls.

	N	SCD	N	Healthy	P
Ethnicity, %					
Caucasian	10	22.7	53	60.2	<0.001 <sup>1</sup>
Non-Caucasian	34	77.3	35	39.8	
Age, years - Median±IQR	44	29.5 ± 12	88	27.7 ± 6	0.541 <sup>2</sup>
Weight, kg - Median±IQR	41	63 ± 14	88	73 ± 8	<0.001 <sup>2</sup>
Height, m - Mean±SD	41	1.74 ± 0.06	88	1.74 ± 0.06	0.727 <sup>3</sup>
BMI, Kg/m <sup>2</sup> - Median±IQR	41	20.6 ± 4.3	88	24.2 ± 2.2	0.384 <sup>2</sup>
Genotype, %					
SS	35	85.4			
Sβ	6	14.6			
Acute complications, %					
Pain crisis	27	65.8			
Acute thoracic syndrome	21	51.2			
Priapism	12	29.3			
Stroke	3	7.3			
Chronic complications, %					
Avascular necrosis	8	19.5			
Pulmonary hypertension	9	21.9			
Retinopathy	7	17.1			
Microalbuminuria	16	39.0			
Hydroxyurea use	28	68.3			

1: Fisher's exact test; 2: Mann-Whitney U test; 3: Student-T test; BMI: body mass index

Table 2. Bone mineral density (BMD) and body composition parameters in men with SCD assisted at the Hereditary Anemia Outpatient Clinics - Hematology Division at UNIFESP/EPM from January 2013 to December 2014 and healthy age-matched controls.

	N	SCD	N	Healthy	P
Femoral neck					
BMD, g/cm <sup>2</sup> - Median±IQR	41	1.022 ± 0.284	88	1.039 ± 0.221	0.674 <sup>1</sup>
Z-score- Median±IQR	41	-0.5 ± 2.3	88	0.15 ± 1.3	0.271 <sup>1</sup>
Total femur					
BMD, g/cm <sup>2</sup> - Median±IQR	41	1.022 ± 0.345	88	1.066 ± 0.198	0.764 <sup>1</sup>
Z-score- Median±IQR	41	-0.3 ± 2.2	88	0 ± 0.4	0.190 <sup>1</sup>
Lumbar spine					
BMD, g/cm <sup>2</sup> - Median±IQR	41	1.136 ± 0.405	88	1.175 ± 0.179	0.888 <sup>1</sup>
Z-score- Median±IQR	41	-0.6 ± 3.1	88	-0.3 ± 1.7	0.674 <sup>1</sup>
FMI (Kg/m <sup>2</sup> ) - Median±IQR	41	2.932 ± 3.360	88	6.735 ± 3.356	0.107 <sup>1</sup>
ALM/height <sup>2</sup> , Kg/m <sup>2</sup> - Mean±SD	41	7.354 ± 0.812	88	8.378 ± 1.299	0.579 <sup>2</sup>
ALM/BMI- Mean±SD	41	1.080 ± 0.136	88	1.067 ± 0.193	0.193 <sup>2</sup>

1: Mann-Whitney U test; 2: Student-T test; BMD: bone mineral density; ALM: appendicular lean mass; BMI: body mass index; FMI: fat mass index

Table 3. Low bone, lean and fat mass rates among men with SCD assisted at the Hereditary Anemia Outpatient Clinics - Hematology Division at UNIFESP/EPM from January 2013 to December 2014 and healthy age-matched controls.

	SCD		Healthy		p <sup>1</sup>
	N=41	%	N=88	%	
Bone mass					
Low – BMD Z-score ≤ -2	13	31.7	5	5.7	<0.001
Normal - BMD Z-score > -2	28	68.3	83	94.3	
Lean mass - Baumgartner's criteria					
Low – ALM/height <sup>2</sup> < 7 kg/m <sup>2</sup>	15	36.6	13	14.8	0.010
Normal - ALM/height <sup>2</sup> ≥ 7 kg/m <sup>2</sup>	26	63.4	75	85.2	
Lean mass - FNIIH's criteria					
Low – ALM/BMI < 0.789	0	0	6	6.8	0.175
Normal – ALM/BMI ≥ 0.789	41	100	82	93.2	
Fat mass					
Low	21	51.2	3	3.4	<0.001
Normal	13	31.7	31	35.2	
High	7	17.1	54	61.4	

1: Fisher's exact test; BMD: bone mineral density; ALM: appendicular lean mass; BMI: body mass index; FMI: fat mass index

Table 4. Association of bone mass, lean mass, fat mass and vertebral fractures with clinical characteristics in SCD men

	Bone mass#		P <sup>1</sup>	Lean mass##		P <sup>1</sup>	Fat mass###			Vertebral Fractures		P <sup>1</sup>	
	Low N=13	Normal N=28		Low N=15	Normal N=26		Low N=21	Normal N=13	High N=7	Yes N=7	No N=31		
Genotype, N (%)													
SS	10 (76.9)	21 (75)	1	13 (86.7)	22 (84.6)	1	19 (90.5)	12 (92.3)	4 (57.1)	0.075	5 (7.4)	27 (87.1)	0.302
Sβ	3 (23.1)	7 (25)		2 (13.3)	4 (15.4)		2 (9.5)	1 (7.7)	3 (42.9)		2 (28.6)	4 (12.9)	
Acute complications, N (%)													
Pain crisis	8 (61.5)	19 (67.9)	0.733	9 (60)	18 (69.2)	0.734	12 (57.1)	10 (76.9)	5 (71.4)	0.507	5 (71.4)	20 (64.5)	1
Acute thoracic syndrome	7 (53.8)	14 (50)	1	6 (40)	15 (57.7)	0.341	10 (47.6)	8 (61.54)	3 (42.86)	0.698	2 (28.6)	17 (54.8)	0.405
Priapism	2 (15.4)	10 (35.7)	0.275	3 (20)	9 (34.6)	0.480	5 (23.8)	5 (38.46)	2 (28.57)	0.735	2 (28.6)	7 (22.6)	1
Stroke	1 (7.7)	2 (7.1)	1	3 (20)	0	0.043	2 (9.5)	1 (7.7)	0	1	1 (14.3)	2 (6.5)	0.467
Chronic complications, N (%)													
Avascular necrosis	1 (7.7)	7 (25)	0.398	3 (30)	5 (19.2)	1	4 (19.1)	1 (7.7)	3 (42.7)	0.172	3 (42.7)	4 (12.9)	0.101
Pulmonary hypertension	1 (7.7)	8 (28.6)	0.228	2 (13.3)	7 (26.9)	0.445	3 (14.3)	2 (15.4)	4 (57.1)	0.076	2 (28.6)	7 (22.6)	1
Retinopathy	0	7 (25)	0.076	0	7 (26.9)	0.035	2 (9.5)	2 (15.4)	3 (42.7)	0.134	2 (28.6)	4 (12.9)	0.303
Microalbuminuria	6 (46.2)	10 (35.7)	0.731	4 (26.7)	12 (46.2)	0.322	9 (42.9)	3 (23.1)	4 (57.1)	0.269	3 (42.7)	12 (38.7)	1
Hydroxyurea use, N (%)	6 (46.2)	21 (75)	0.088	9 (60)	19 (73.1)	0.491	10 (47.6)	11 (84.6)	7 (100)	0.010	5 (71.4)	22 (71)	1

1: Fisher's exact test; # Low - BMD Z-score ≤ -2, Normal - BMD Z-score > -2; ## Low - ALM/height<sup>2</sup> < 7 kg/m<sup>2</sup>, ALM/height<sup>2</sup> ≥ 7 kg/m<sup>2</sup>; ### Low: < 3Kg/m<sup>2</sup>, Normal 3-6Kg/m<sup>2</sup>, High > 6Kg/m<sup>2</sup>

**Table 5.** BMD and body composition parameters in SCD men with and without vertebral fracture

	Vertebral Fractures		p <sup>1</sup>
	Yes N=7	No N=29	
Bone mass, N (%)			
Low – BMD Z-score ≤ -2	1 (2.8)	11 (30.5)	0.383
Normal - BMD Z-score > -2	6 (16.7)	18 (50)	
Lean mass - Baumgartner's criteria, N (%)			
Low – ALM/height <sup>2</sup> < 7 kg/m <sup>2</sup>	4 (11.1)	10 (27.8)	0.394
Normal - ALM/height <sup>2</sup> ≥ 7 kg/m <sup>2</sup>	3 (12.2)	19 (52.8)	
Lean mass - FNIH's criteria, N (%)			
Low – ALM/BMI < 0.789	0	0	1
Normal – ALM/BMI ≥ 0.789	7 (19.4)	29 (80.6)	
Fat mass, N (%)			
Low	5 (13.9)	12 (33.3)	0.085
Normal	0	12 (33.3)	
High	2 (5.6)	5 (13.9)	

1: Fisher's exact test;



## References

ADESINA, O. O. et al. Height-corrected low bone density associates with severe outcomes in sickle cell disease: SCCRIP cohort study results. **Blood advances**, v. 3, n. 9, p. 1476–1488, 14 maio 2019.

ALMEIDA, A.; ROBERTS, I. Bone involvement in sickle cell disease. **British journal of haematology**, v. 129, n. 4, p. 482–90, maio 2005.

BALDANZI, G. et al. Low bone mass density is associated with hemolysis in brazilian patients with sickle cell disease. **Clinics**, v. 66, n. 5, p. 801–805, jan. 2011.

BARDEN, E. M. et al. Body composition in children with sickle cell disease. **The American journal of clinical nutrition**, v. 76, n. 1, p. 218–25, jul. 2002.

BAUMGARTNER, R. N. et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. **American journal of epidemiology**, v. 147, n. 8, p. 755–63, 15 abr. 1998.

BEAVERS, K. M. et al. Low relative skeletal muscle mass indicative of sarcopenia is associated with elevations in serum uric acid levels: findings from NHANES III. **The journal of nutrition, health & aging**, v. 13, n. 3, p. 177–82, mar. 2009.

BENENSON, I.; PORTER, S. Sickle Cell Disease: Bone, Joint, Muscle, and Motor Complications. **Orthopedic nursing**, v. 37, n. 4, p. 221–227, 2018.

BOREL, M. J. et al. Protein turnover and energy expenditure increase during exogenous nutrient availability in sickle cell disease. **The American journal of clinical nutrition**, v. 68, n. 3, p. 607–14, set. 1998.

BRINKER, M. R. et al. Bone mineral density of the lumbar spine and proximal femur is decreased in children with sickle cell anemia. **American journal of orthopedics (Belle Mead, N.J.)**, v. 27, n. 1, p. 43–9, jan. 1998.

BRIOT, K. et al. Inflammatory diseases and bone fragility. **Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for**

**Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA**, v. 28, n. 12, p. 3301–3314, dez. 2017.

BULTINK, I. E. M. et al. Inflammatory rheumatic disorders and bone. **Current rheumatology reports**, v. 14, n. 3, p. 224–30, jun. 2012.

CRUZ-JENTOFT, A. J. et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. **Age and ageing**, v. 48, n. 1, p. 16–31, 1 jan. 2019.

CUMMINGS, S. R. et al. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. **The New England journal of medicine**, v. 332, n. 12, p. 767–73, 23 mar. 1995.

DE FRANCESCHI, L. et al. Development of Algorithm for Clinical Management of Sickle Cell Bone Disease: Evidence for a Role of Vertebral Fractures in Patient Follow-up. **Journal of clinical medicine**, v. 9, n. 5, 25 maio 2020.

DE LUNA, G. et al. High bone mineral density in sickle cell disease: Prevalence and characteristics. **Bone**, v. 110, p. 199–203, maio 2018.

EKE, C. B. et al. Bioelectric Impedance Analysis of Body Composition of Children and Adolescents with Sickle Cell Anemia in Enugu, Nigeria. **Pediatric Hematology and Oncology**, v. 32, n. 4, p. 258–268, 19 maio 2015.

GARADAH, T. S. et al. Predictors of abnormal bone mass density in adult patients with homozygous sickle-cell disease. **Clinical medicine insights. Endocrinology and diabetes**, v. 8, p. 35–40, 2015.

GENANT, H. K. et al. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. **Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, v. 8, n. 9, p. 1137–48, set. 1993.

HOUWING, M. E. et al. Sickle cell disease: Clinical presentation and management of a global health challenge. **Blood reviews**, v. 37, p. 100580, set. 2019.

JANSSEN, I. et al. Skeletal muscle cutpoints associated with elevated physical disability risk in older men and women. **American journal of epidemiology**, v. 159, n. 4, p. 413–21, 15 fev. 2004.

KAPOOR, S.; LITTLE, J. A.; PECKER, L. H. Advances in the Treatment of Sickle Cell Disease. **Mayo Clinic proceedings**, v. 93, n. 12, p. 1810–1824, dez. 2018.

KAUSHANSKY, K. et al. Editors. Em: **Williams Hematology, 9e**. New York, NY: McGraw-Hill Education, 2015.

KELEPOURIS, N. et al. Severe osteoporosis in men. **Annals of internal medicine**, v. 123, n. 6, p. 452–60, 15 set. 1995.

KOPP-HOOLIHAN, L. E. et al. Elevated resting energy expenditure in adolescents with sickle cell anemia. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 195–9, fev. 1999.

LEWIECKI, E. M. et al. International Society for Clinical Densitometry 2007 Adult and Pediatric Official Positions. **Bone**, v. 43, n. 6, p. 1115–21, dez. 2008.

MEEUWES, M. et al. Bone mineral density, growth, pubertal development and other parameters in Brazilian children and young adults with sickle cell anaemia. **Tropical medicine & international health : TM & IH**, v. 18, n. 12, p. 1539–46, dez. 2013.

MILLER, R. G. et al. High prevalence and correlates of low bone mineral density in young adults with sickle cell disease. **American journal of hematology**, v. 81, n. 4, p. 236–41, abr. 2006.

ONIMOE, G.; ROTZ, S. Sickle cell disease: A primary care update. **Cleveland Clinic journal of medicine**, v. 87, n. 1, p. 19–27, jan. 2020.

SADAT-ALI, M. et al. Does high serum iron level induce low bone mass in sickle cell anemia ? **Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine**, v. 24, n. 1, p. 19–22, fev. 2011.

SARRAI, M. et al. Bone mass density in adults with sickle cell disease. **British journal of haematology**, v. 136, n. 4, p. 666–72, fev. 2007.

SERARSLAN, Y. et al. Morphometry of the thoracolumbar vertebrae in sickle cell disease. **Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia**, v. 17, n. 2, p. 182–6, fev. 2010.

SHUHART, C. R. et al. Executive Summary of the 2019 ISCD Position Development Conference on Monitoring Treatment, DXA Cross-calibration and Least Significant Change, Spinal Cord Injury, Peri-prosthetic and Orthopedic Bone Health, Transgender Medicine, and Pediatrics. **Journal of clinical densitometry : the official journal of the International Society for Clinical Densitometry**, v. 22, n. 4, p. 453–471, 2019.

SOUSA, M. DAS G. B. et al. Body composition parameters in healthy Brazilian women differ from white, black, and Hispanic American women reference range. **Journal of clinical densitometry : the official journal of the International Society for Clinical Densitometry**, v. 16, n. 3, p. 360–367, 2013.

STUDENSKI, S. A. et al. The FNIH sarcopenia project: rationale, study description, conference recommendations, and final estimates. **The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences**, v. 69, n. 5, p. 547–58, maio 2014.

VOSKARIDOU, E. et al. Osteoporosis and osteosclerosis in sickle cell/beta-thalassemia: the role of the RANKL/osteoprotegerin axis. **Haematologica**, v. 91, n. 6, p. 813–6, jun. 2006.

WANG, J. et al. Body fat from body density: underwater weighing vs. dual-photon absorptiometry. **The American journal of physiology**, v. 256, n. 6 Pt 1, p. E829-34, jun. 1989.