

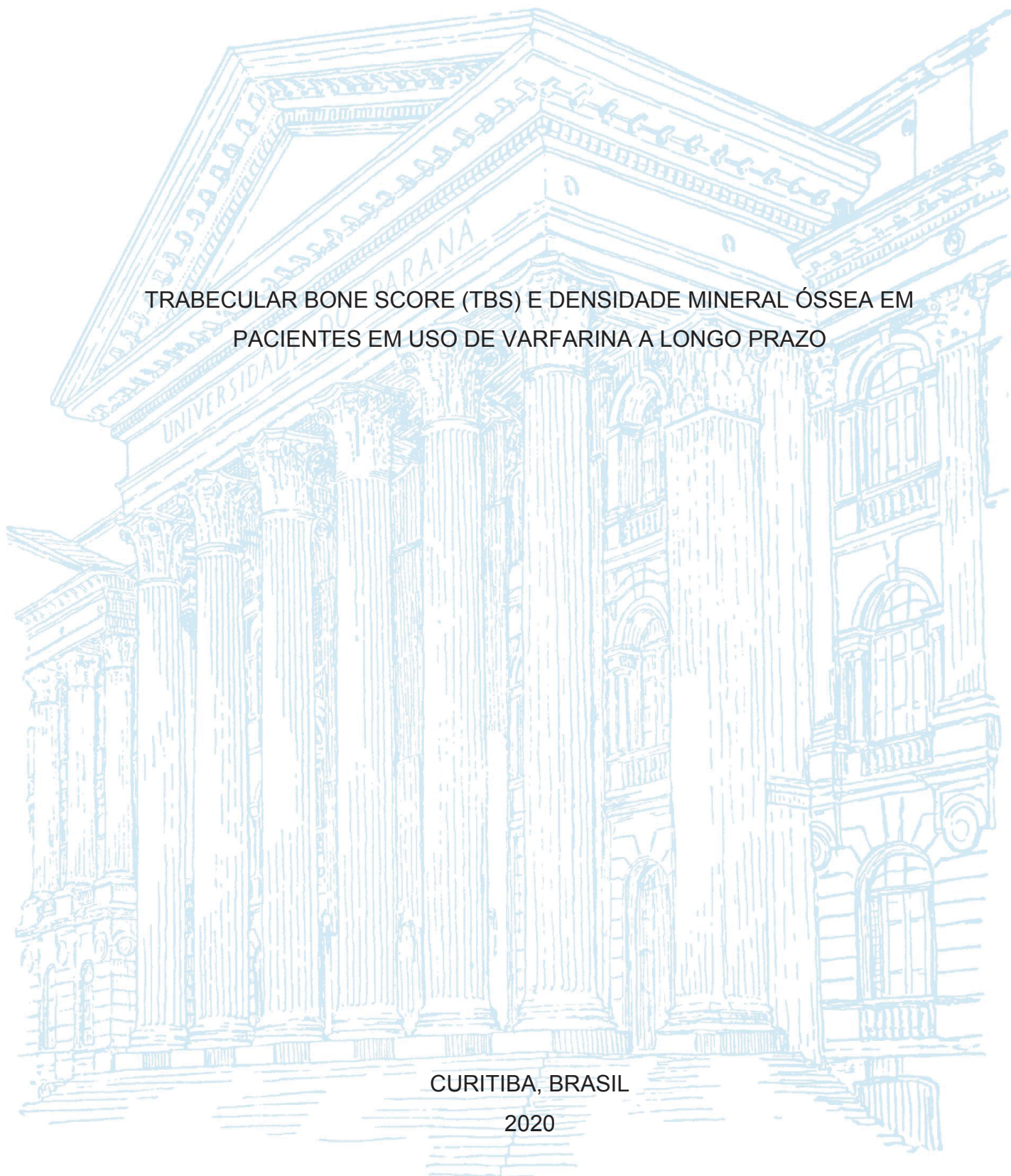
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JÚLIA VIEIRA OBERGER MARQUES

TRABECULAR BONE SCORE (TBS) E DENSIDADE MINERAL ÓSSEA EM  
PACIENTES EM USO DE VARFARINA A LONGO PRAZO

CURITIBA, BRASIL

2020



JÚLIA VIEIRA OBERGER MARQUES

*TRABECULAR BONE SCORE (TBS) E DENSIDADE MINERAL ÓSSEA EM  
PACIENTES EM USO DE VARFARINA A LONGO PRAZO*

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina Interna, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Medicina Interna.

Orientadora: Profa. Dra. Victoria Zeghbi Cochenski Borba

Coorientadora: Profa. Dra. Carolina Aguiar Moreira

CURITIBA, BRASIL

2020

M357 Marques, Júlia Vieira Oberger  
Trabecular Bone Score (TBS) e densidade mineral óssea em  
pacientes em uso de varfarina a longo prazo [recurso eletrônico]  
/ Júlia Vieira Oberger Marques. – Curitiba, 2020.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade  
Federal do Paraná.

Orientadora: Profa. Dra. Victoria Zeghbi Cochenski Borba  
Coorientadora: Profa. Dra. Carolina Aguiar Moreira

1. Anticoagulantes 2. Osteoporose. 3. Densidade óssea.  
4. Varfarina. I. Borba, Victoria Zeghbi Cochenski. II. Moreira,  
Carolina Aguiar. III. Programa de Pós-Graduação em Medicina  
Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do  
Paraná. IV. Título.

NLM: WV 193



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MEDICINA INTERNA E  
CIÊNCIAS DA SAÚDE - 40001016012P1

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **JÚLIA VIEIRA OBERGER MARQUES** intitulada: **TRABECULAR BONE SCORE (TBS) E DENSIDADE MINERAL ÓSSEA EM PACIENTES EM USO DE VARFARINA A LONGO PRAZO.**, sob orientação da Profa. Dra. VICTÓRIA ZEGHBI COCHENSKI BORBA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 23 de Novembro de 2020.

Assinatura Eletrônica

26/11/2020 15:01:09.0

VICTÓRIA ZEGHBI COCHENSKI BORBA

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

23/11/2020 10:16:25.0

BARBARA CAMPOLINA CARVALHO SILVA

Avaliador Externo (FUNDAÇÃO SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE BELO HORIZONTE)

Assinatura Eletrônica

23/11/2020 18:00:14.0

VICENTE FLORENTINO CASTALDO ANDRADE

Avaliador Externo (DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA/UFPR.)

Rua General Carneiro, 181 - Prédio Central - 11º Andar - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 80060-150 - Tel: (41) 3360-1099 - E-mail: ppgmedicina@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 63188

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 63188

Dedico esse trabalho e conquista ao meu esposo Gabriel por toda a ajuda, companheirismo e incentivo.

## **AGRADECIMENTOS**

Um trabalho de excelência sempre conta com a participação de muitas mãos.

Agradeço a minha família e ao meu esposo Gabriel que me ajudaram, incentivaram e entenderam minha ausência durante a dedicação ao mestrado.

Agradeço imensamente às minhas orientadoras Victoria e Carolina que confiaram no meu trabalho, contribuíram brilhantemente ao trabalho e que são as minhas maiores fontes de inspiração dentro da Endocrinologia e Metabolismo Ósseo.

Agradeço ao Jeferson, meu amigo, colega e braço direito para a realização do mestrado, ao Matheus e ao Arthur por contribuírem com excelência na coleta de dados.

Agradecimento especial aos médicos, residentes, professores e colaboradores do SEMPR em especial a Filomena que foi peça fundamental na realização da densitometria óssea e TBS e sempre esteve pronta a ajudar.

A vida não é sobre metas e conquistas, é sobre quem você se tornou durante a caminhada. (Phablo Ricardo)

## RESUMO

A varfarina é um anticoagulante inibidor da vitamina K utilizada como prevenção e tratamento de doenças tromboembólicas. Evidências na literatura sugerem que o uso da varfarina a longo prazo pode levar a redução da densidade mineral óssea. O mecanismo proposto para essa alteração é que a inibição da vitamina K (cofator essencial na mineralização óssea) pela varfarina leve a formação da matriz óssea desmineralizada. Os dados na literatura são escassos e os estudos avaliaram populações heterogêneas e com muitos vieses de seleção. Até o momento não existem estudos que avaliaram a qualidade óssea pelo *Trabecular Bone Score* (TBS) de pacientes usuários de varfarina. Nesse estudo, comparamos pacientes em uso do anticoagulante varfarina por mais de um ano com um grupo controle com características clínicas semelhantes sem o uso de anticoagulantes. O objetivo do trabalho foi avaliar a densidade mineral óssea (DMO) e o TBS de pacientes em uso de varfarina por mais de 1 ano em comparação ao grupo controle. Critérios de inclusão foram pacientes do sexo masculino com idade entre 25-65 anos em uso de varfarina por mais de um ano. Foi aplicado um questionário sobre hábitos de vida e posterior realização de densitometria óssea por dupla emissão de raios X (DXA) de coluna lombar e quadril e avaliação da qualidade óssea através da ferramenta TBS. No grupo varfarina (GV) 96 pacientes acompanhados no serviço de cardiologia foram convidados, 36 aceitaram participar, 3 foram excluídos por uso menor que 1 ano, resultado em 33 pacientes incluídos no GV. O grupo controle (GC) foi composto por 21 indivíduos pareados por idade e raça. A média de idade do GV foi de  $57,0 \pm 7,6$  e do GC  $54,0 \pm 10,6$  anos ( $p = 0,095$ ). A DMO ( $g/cm^2$ ) no GV foi menor do que no GC em todos os sítios analisados (coluna  $p < 0,001$ , quadril total  $p = 0,001$  e colo do fêmur  $p = 0,005$ ). Na análise multivariada, quanto maior o tempo de uso de varfarina, maior a probabilidade de apresentar DMO baixa (OR = 1,239, IC 1,064-1,674;  $p = 0,01$ ), enquanto o maior índice de massa corporal (IMC) foi um fator de proteção (OR = 0,732, IC 0,533-0,918;  $p = 0,03$ ). Os valores de TBS foram menores no GV comparado ao GC ( $p = 0,04$ ). O TBS mais baixo foi associado à hipertensão em ambos os grupos e à DMO do quadril (colo de fêmur e total) ( $p < 0,005$ ) no GV. Na análise multivariada, apenas a hipertensão ( $-0,10$ , IC  $-0,17 - -0,03$ ,  $p = 0,008$ ) e DMO total do quadril ( $0,26$ , IC  $0,07 - 0,46$ ,  $p = 0,009$ ) influenciaram o TBS. Demonstramos uma associação entre a piora da DMO e a qualidade óssea em pacientes em uso de varfarina por mais de um ano.

Palavras-chave: Anticoagulantes. Osteoporose. Densidade óssea. Varfarina.



## ABSTRACT

Warfarin is a vitamin K inhibitor anticoagulant used to prevent and treat thromboembolic diseases. Evidence in the literature suggests that long-term use of warfarin may lead to a reduction in bone mineral density. The mechanism proposed for this change is that with the inhibition of vitamin K (essential cofactor in bone mineralization) by warfarin, there would be the formation of the demineralized bone matrix. Data in the literature are scarce and studies have evaluated heterogeneous populations with many selection biases. To date, there are no studies that have evaluated bone quality using TBS in patients using warfarin. In this study we compared patients using the anticoagulant warfarin for more than a year with a control group with similar characteristics but without using the anticoagulant drugs. Evaluate the bone mineral density (BMD) and TBS of patients taking warfarin for more than 1 year compared to a control group. Male patients aged 25-65 years in warfarin use for more than one year were included. Patients answered a questionnaire regarding lifestyle habits and performed a dual X-ray densitometry (DXA) (lumbar spine and hip) and TBS was evaluated. From 96 patients invited, 36 patients accepted, 3 were excluded and 33 patients comprised the warfarin group (WG). The control group (CG) was composed of 21 individuals matched by age and race. The mean age of WG was  $57.0 \pm 7.6$  and in the CG  $54.0 \pm 10.6$  years ( $p = 0.095$ ). The BMD in WG was lower than in the CG in all sites (spine  $p < 0.001$ , total hip  $p = 0.001$ , and femoral neck  $p = 0.005$ ). A longer time of warfarin use increased the likelihood of having low BMD (OR= 1.239, CI 1.064-1.674;  $p = 0.01$ ), whereas high BMI decreased it (OR= 0.732, CI 0.533-0.918;  $p = 0.03$ ). The TBS was lower in WG than the CG ( $p = 0.04$ ). Lower TBS was associated with hypertension in both groups, and to the hip BMD (neck and total) ( $p < 0.005$ ) in the WG. In the multivariate analysis only hypertension ( $-0.10$ , CI  $-0.17 - -0.03$ ,  $p = 0.008$ ) and total hip BMD ( $0.26$ , CI  $0.07 - 0.46$ ,  $p = 0.009$ ) influenced TBS. We demonstrated an association between worsening of BMD and bone quality in patients taking warfarin for more than one year.

Keywords: Anticoagulants. Osteoporosis. Bone Mineral Density. Warfarin.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – CARBOXILAÇÃO DA OSTEOCALCINA E INIBIÇÃO PELA VARFARINA.....	19
FIGURA 2– MECANISMO DE FALHA DA MINERALIZAÇÃO ÓSSEA CAUSADO PELA VARFARINA. ....	19
FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO DO VALOR DO TBS INDEPENDENTE DA DMO. . .....	21

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ABRASSO	- Associação Brasileira de Avaliação Óssea e Osteometabolismo
DMO	- Densidade mineral óssea
DOACS	- Anticoagulantes Orais Diretos
DXA	- Densitometria óssea por dupla emissão de raios X
FRAX	- Fracture Risk Assessment Tool
GAS6	- Proteína de crescimento proteico 6
GC	- Grupo Controle
GV	- Grupo Varfarina
HC/UFPR	- Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
HRpQCT	- Tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução
IMC	- Índice de Massa Corporal
INR	- Tempo de protrombina
IPAQ	- International Physical Activity Questionnaires
ISCD	- International Society for Clinical Densitometry
PTH	- Paratormônio
RANKL	- Ativador do receptor do fator nuclear kappa $\beta$
TBS	- Trabecular Bone Score
TCLE	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TSH	- Hormônio tireoestimulante
VN	- Valor normal
VFA	- Vertebral Fracture Assessment

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\beta$  - beta

$>$  - maior que

$<$  - menor que

$\geq$  - maior ou igual

$\leq$  - menor ou igual

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
2.1 MECANISMO DOS EFEITOS ÓSSEOS PELA VARFARINA.....	18
2.2 DENSIDADE ÓSSEA E USO DA VARFARINA.....	19
2.3 QUALIDADE ÓSSEA E USO DE VARFARINA.....	20
2.4 RISCO DE FRATURA EM USUÁRIOS DE VARFARINA.....	22
<b>3 HIPÓTESES</b> .....	<b>24</b>
<b>4 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>24</b>
<b>5 OBJETIVOS</b> .....	<b>24</b>
5.1.1 Objetivo geral .....	24
5.1.2 Objetivos específicos.....	24
<b>6 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
6.1 GRUPO VARFARINA.....	25
6.2 GRUPO CONTROLE .....	26
6.3 ANÁLISE BIOQUÍMICA.....	26
6.4 DENSIDADE MINERAL ÓSSEA E TRABECULAR BONE SCORE .....	26
6.5 ANÁLISE DO FRAX .....	27
6.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	27
<b>7 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS</b> .....	<b>28</b>
<b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>42</b>
8.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	43
<b>9. CONCLUSÕES</b> .....	<b>45</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>46</b>
<b>ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO GRUPO CONTROLE</b> .....	<b>50</b>
<b>ANEXO 2- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO GRUPO VARFARINA</b> .....	<b>52</b>
<b>ANEXO 3 – QUESTIONÁRIO DE HÁBITOS DE VIDA E FATORES DE RISCO PARA OSTEOPOROSE</b> .....	<b>55</b>
<b>ANEXO 4 - INTERNATIONAL PHYSICAL ACTIVITY QUESTIONNAIRES, EM PORTUGUÊS</b> .....	<b>56</b>
<b>ANEXO 5 – APROVAÇÃO COMITE DE ETICA EM PESQUISA</b> .....	<b>57</b>

<b>ANEXO 6 – ARTIGO NA ÍNTEGRA PUBLICADO NA REVISTA CIENTÍFICA <i>ARCHIVES OF OSTEOPOROSIS</i> .....</b>	<b>61</b>
<b>ANEXO 7 – TABELAS DE DADOS DOS PACIENTES INCLUIDOS NO GRUPO VARFARINA .....</b>	<b>68</b>
<b>ANEXO 8 – TABELAS DE DADOS DOS PACIENTES INCLUÍDOS NO GRUPO CONTROLE .....</b>	<b>71</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A varfarina é um anticoagulante inibidor da vitamina K utilizado em muitas situações como prevenção e/ou tratamento de doenças ou eventos tromboembólicos primários ou secundários (1). Apesar de seus benefícios na anticoagulação, existem evidências na literatura de que a varfarina pode levar a efeitos negativos na DMO (2). Isso ocorre porque a vitamina K é um cofator essencial para a formação da matriz óssea, e a inibição da vitamina K pela varfarina leva à formação de uma matriz óssea desmineralizada (3). Estudos revelaram que pacientes que usam varfarina por mais de um ano podem evoluir com redução da densidade mineral óssea e fraturas, em adultos e crianças. No entanto, esses estudos são pequenos, com um grupo heterogêneo de pacientes e muitos fatores de confusão (4,5). A redução da massa óssea impacta na qualidade de vida e aumenta a mortalidade nesses pacientes. Apesar de poucos dados, quando comparada aos novos anticoagulantes não inibidores da vitamina K, a varfarina apresentou maior risco de fratura (6), maior redução do volume ósseo, aumento da separação trabecular e aumento da renovação óssea, o que afeta diretamente a qualidade óssea (7). O TBS, recurso da densitometria óssea, é uma ferramenta que avalia a qualidade óssea indiretamente, comparável aos parâmetros da biópsia óssea (8). É possível que a varfarina possa reduzir além da DMO, também a qualidade óssea. Entretanto, até o momento, não há estudos controlados com TBS para avaliar a qualidade óssea em pacientes em uso de varfarina e os estudos sobre DMO apresentam grande heterogeneidade. Por esse motivo, este estudo teve como objetivo avaliar a DMO e o TBS em homens em uso de varfarina por mais de um ano em comparação com um grupo controle pareado e verificar a possível associação com outros fatores de risco clássicos para osteoporose, características clínicas associadas ao uso de varfarina.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Com o aumento da expectativa de vida das populações e menor mortalidade por doenças infecciosas, há aumento da incidência e prevalência de doenças crônicas como é o caso da osteoporose.

A osteoporose é uma doença crônica definida pela fragilidade óssea e alterações na microarquitetura óssea que pode levar a fraturas ósseas de baixo

impacto ou fraturas por fragilidade (9). Fratura por fragilidade é definida pela Organização Mundial de Saúde como “uma fratura causada por um trauma que seria insuficiente para fraturar um osso normal, resultado de uma redução da resistência compressiva ou torsional (10).

Em todo o mundo, a osteoporose causa mais de 8,9 milhões de fraturas anualmente, resultando em uma fratura osteoporótica a cada 3 segundos (11). No Brasil, a prevalência de osteopenia e osteoporose avaliada em um estudo na cidade de São Paulo (SP) revelou que 33% das mulheres na pós-menopausa apresentavam osteoporose na coluna lombar ou no fêmur e 11,5% já apresentavam fraturas osteoporóticas (12).

O número total de pessoas acometidas por fraturas por fragilidade chega a 10 milhões no Brasil e o gasto com tratamento e cuidados desses casos no Sistema Único de Saúde (SUS) em 2010 chegou a R\$ 81 milhões. Estima-se que o número de fraturas de quadril também aumente, em 2010 eram 121.700 casos em 2010, em 2050 poderá chegar a 160.000 (13).

O diagnóstico da osteoporose é de extrema importância, pois o tratamento farmacológico pode reduzir custos, melhorar qualidade de vida e prevenir fraturas. Atualmente, o diagnóstico da osteoporose pode ser realizado de 3 formas distintas:

- a) através da avaliação da DMO por DXA.
  - a. T score igual ou menor que -2,5 DP em um dos sítios (coluna lombar, colo do fêmur, fêmur total ou 33% do rádio) (14);
- b) após uma fratura por fragilidade (baixo impacto) independente da DMO (15);
- c) ou se alto risco de fraturas em 10 anos calculado através do algoritmo do FRAX (15,16).

FRAX foi desenvolvido pelo *World Health Organization Collaborating Center for Metabolic Bone Diseases* da Universidade de Sheffield, Inglaterra, em parceria com a Organização Mundial de Saúde (OMS) e foi lançado em 2008. A probabilidade de fraturas em 10 anos é calculada através da história clínica do paciente e fatores de risco com ou sem a densidade mineral óssea do colo do fêmur avaliada pela DXA (17).

O FRAX Brasil foi validado recentemente para a população brasileira e leva em consideração fatores de risco associados a valores de densidade mineral óssea e/ou TBS. Fatores de risco incluídos no FRAX são: idade, sexo, uso de



glicocorticoides, história familiar de fratura de quadril (pais), fratura prévia por fragilidade, baixo IMC, tabagismo atual, história de artrite reumatoide ou osteoporose secundária e consumo excessivo de álcool (18).

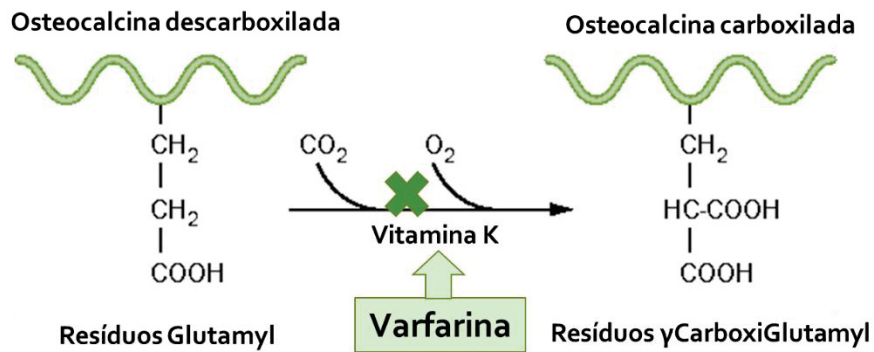
A osteoporose secundária é definida como baixa massa óssea com alterações da microarquitetura óssea levando a fraturas por fragilidade na presença de doença de base ou medicação (19). Até 30% das mulheres pós-menopáusicas e 50 a 80% dos homens apresentam fatores que contribuem para a osteoporose quando submetidos a uma avaliação das causas subjacentes da doença (20). O diagnóstico de causas secundárias de osteoporose é importante, pois a resposta pode ser limitada se a causa subjacente não for descoberta.

Evidências na literatura indicam que os anticoagulantes orais, em particular os inibidores de vitamina K como a varfarina, têm efeitos negativos na densidade mineral óssea (1) e podem ser considerados causas secundárias de osteoporose aumentando o risco de fraturas, morbidade e mortalidade nos pacientes que utilizam a medicação por mais de 1 ano (6).

## 2.1 MECANISMO DOS EFEITOS ÓSSEOS PELA VARFARINA

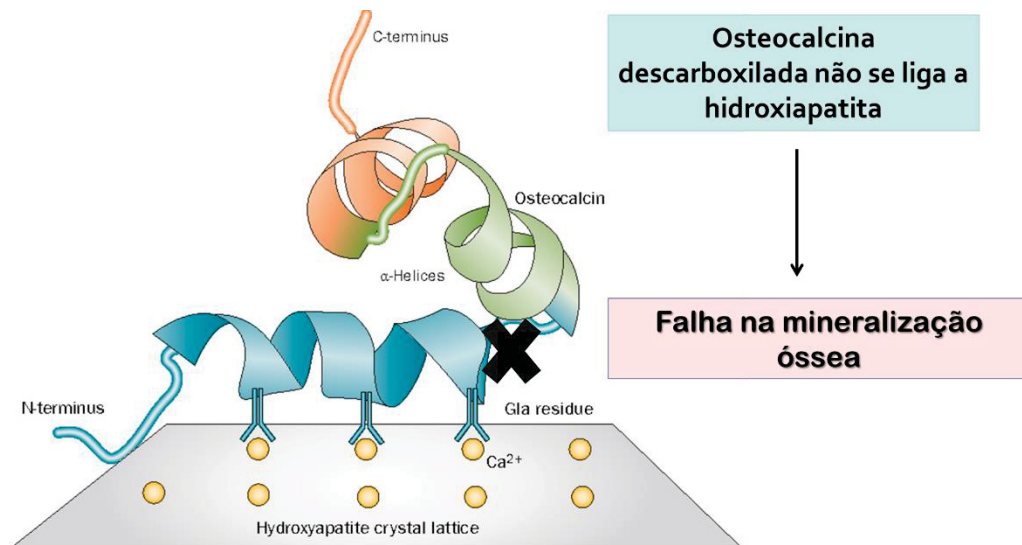
A vitamina K é um cofator essencial para a formação da matriz óssea e a inibição dessa vitamina pela varfarina pode levar a defeitos na matriz óssea (2). Três proteínas principais dependentes da vitamina K estão implicadas na chave para a formação óssea: osteocalcina, proteína Gla da matriz e proteína de crescimento proteico 6 (GAS6). Essas proteínas estão envolvidas na inibição da calcificação vascular, manutenção da formação óssea e regulação do crescimento vascular (1). Desde 1970, quando foi sequenciada a osteocalcina foi confirmada que desempenha um papel importante na mineralização óssea. A estrutura única da osteocalcina permite a ligação de íons de cálcio e superfície mineral de cálcio nas posições 17, 21 e 24 com três resíduos de ácido gama-carboxiglutâmico (21). A vitamina K é um cofator essencial na gama-carboxilação da osteocalcina que contribui para a mineralização óssea. Com a inibição da vitamina K, há interferência na síntese da proteína de ácido glutamyl  $\gamma$ -carboxilado pela vitamina K no osso, resultando em proteína Gla anormal e acúmulo de osteocalcina não carboxilada (22). FIGURA 1. Por esta razão, proteínas anormais da matriz óssea não conseguem se ligar à hidroxiapatita, resultando em falha na mineralização da matriz óssea (4) FIGURA 2.

FIGURA 1 – CARBOXILAÇÃO DA OSTEOCALCINA E INIBIÇÃO PELA VARFARINA.



FONTE: Adaptado de Booth SL et al. (2013)(23).

FIGURA 2– MECANISMO DE FALHA DA MINERALIZAÇÃO ÓSSEA CAUSADO PELA VARFARINA.



FONTE: Adaptado de Booth SL et al. (2013).

## 2.2 DENSIDADE ÓSSEA E USO DA VARFARINA

Redução da DMO em coluna lombar foi associada ao tempo de uso de varfarina em um estudo que incluiu homens e mulheres na pré e pós menopausa (2). Em outro pequeno estudo que comparou a DMO de 17 crianças usuárias crônicas de varfarina

(mediana de 8,2 anos) com um grupo controle, houve menor DMO de coluna lombar no grupo varfarina (5). A redução da densidade mineral óssea em coluna e também em fêmur foi demonstrada em homens com uso superior a 4 meses (7) e no segundo metacarpo de pacientes após acidente vascular cerebral com 3 a 5 anos de uso de varfarina (3). Nesse último estudo não foi observado aumento do risco de fratura de quadril nos pacientes usuários de varfarina (3). Aumento da osteocalcina descarboxilada e do ativador do receptor do fator nuclear kappa  $\beta$  (RANKL) sugerindo possível alteração da mineralização óssea foi demonstrado em estudo com pacientes em fibrilação atrial (4). Um fator de confusão nesse estudo foi o fato de incluir pacientes tabagistas e diabéticos que sabidamente são grupos que podem apresentar alteração da massa óssea. Um estudo recente de vida real comparou os pacientes com fibrilação atrial em uso de varfarina com o uso dos novos anticoagulantes orais diretos (DOACs) apixabana, dabigatrana e rivaroxabana. Esse estudo mostrou menor risco de osteoporose com os DOACs quando comparados a varfarina e essa associação foi mais forte quanto maior o tempo de uso de varfarina (24). Apesar dessas fortes evidências de uma menor DMO em usuários de varfarina, um estudo realizado em homens idosos >65 anos usuários de varfarina com fibrilação atrial e outras comorbidades (diabetes, hipertireoidismo, doença pulmonar obstrutiva crônica) não demonstrou associação da baixa DMO com o uso da varfarina (25). Por esse motivo, o acometimento da DMO pela varfarina ainda é um ponto controverso na literatura, pois as evidências disponíveis abordaram, na maioria das vezes, grupos heterogêneos de pacientes com vários fatores de confusão e outras comorbidades que sabidamente interferem na massa óssea.

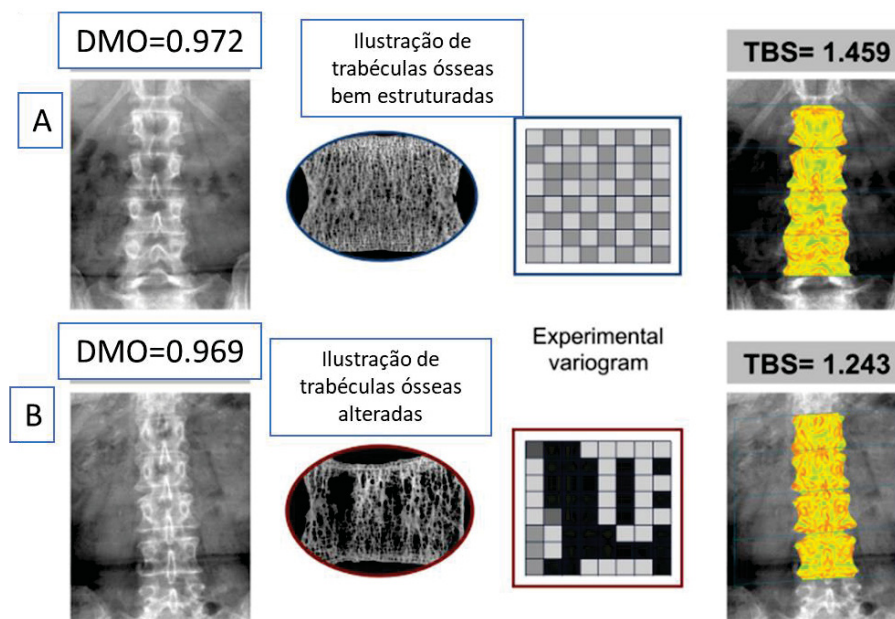
### 2.3 QUALIDADE ÓSSEA E USO DE VARFARINA

A qualidade óssea é um fator determinante da resistência óssea, no entanto, diferente da DMO, há maior dificuldade no acesso a tecnologias para determinar a microarquitetura óssea. As tecnologias disponíveis para avaliação da microarquitetura óssea são: análise histomorfométrica e microtomografia da biópsia óssea de crista ilíaca, tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HRpQCT) e imagem óssea por ressonância magnética. No entanto, nos últimos anos, o Trabecular Bone Score (TBS), uma nova tecnologia de fácil acesso foi desenvolvida.

O TBS é realizado através de um software (TBS iNsight Software, MedImaps, Suíça) acoplado ao aparelho de DXA e consegue avaliar através de variações de nível de cinza de pixel, indiretamente, a microarquitetura óssea (26). O valor do TBS representa a média dos valores encontrados de L1 a L4 e valores propostos para uso na prática clínica são: alto risco de fraturas ( $\leq 1.23$ ), risco intermediário de fraturas ( $TBS > 1.230$  e  $< 1.31$ ) e baixo risco de fraturas ( $TBS \geq 1.31$ ) (27).

Na FIGURA 3 abaixo, uma ilustração de pacientes com DMO semelhante, porém em (A) com boa qualidade trabecular refletindo em TBS com valor normal e em (B) com qualidade trabecular comprometida refletindo em TBS parcialmente degradado.

FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO DO VALOR DO TBS INDEPENDENTE DA DMO.



FONTE: Adaptado de BC Silva et al., 2014 (26)

Estudos mostraram que há correlação significativa do TBS com parâmetros da microarquitetura óssea e que a ferramenta permite diferenciar com precisão entre duas microarquiteturas 3D que exibem a mesma quantidade de osso, mas diferentes características trabeculares (28).

O TBS está associado ao risco de fratura em indivíduos com condições relacionadas à redução da massa óssea ou da qualidade óssea. Um valor de TBS

elevado correlaciona-se com uma melhor estrutura de esqueleto; um baixo valor de TBS correlaciona-se com a pior qualidade da microestrutura esquelética (29).

A maioria dos estudos presentes na literatura são de coortes de mulheres na pós-menopausa. Nessa população o TBS foi associado ao risco de fraturas vertebrais e não vertebrais, independente dos valores de DMO, e a combinação entre TBS e DMO também aumentou a predição no risco de fraturas (30). Estudos em homens demonstraram também potencial uso do TBS nessa população. Um estudo com 180 homens (45 com história de fratura e 135 controles), demonstrou que em homens com história de fratura apresentavam menor valor de TBS quando comparados aos controles com mesma DMO (27,31). Esses dados sugerem a aplicabilidade do TBS na estimativa do risco de fratura nos homens independente da DMO. A *International Society for Clinical Densitometry* (ISCD) recomendou o uso de TBS em homens associado a DMO e ao cálculo do FRAX para previsão do risco de fraturas (32).

Não existem evidências na literatura avaliando a qualidade óssea pelo TBS em usuários de varfarina. Porém, um estudo de histomorfometria demonstrou que quando comparada a dabigatrana, um novo anticoagulante inibidor da trombina, ratos tratados com varfarina apresentaram diminuição significativa do volume ósseo, aumento da separação trabecular e aumento do turnover ósseo sugerindo alteração na qualidade óssea (33). Recentemente, um caso de uma paciente em hemodiálise há 25 anos e uso de varfarina há 13 anos por troca valvar foi submetida a análise histomorfometria de biopsia óssea e observou-se alterações incompatíveis com doença óssea renal. No entanto, mostrou comprometimento nos processos de calcificação óssea, alta remodelação óssea, baixo volume ósseo e fibrose leve relacionado, pelos autores ao uso da varfarina. Além disso, nesse trabalho a osteocalcina descarboxilada estava em níveis sanguíneos elevados sugerindo má mineralização óssea (22).

#### 2.4 RISCO DE FRATURA EM USUÁRIOS DE VARFARINA

Aumento de 3 a 5 vezes no risco de fraturas vertebrais e de costela foi demonstrado em mulheres com fibrilação atrial usuários de varfarina por pelo menos 3 meses ou mais de 1 ano, respectivamente (34). Em 4.461 pacientes idosos usuários de varfarina por fibrilação atrial há mais de 1 ano, a chance de uma fratura foi maior (OR, 1,25; IC 95%, 1,06-1,48) quando comparada a pacientes não usuários de

varfarina. Nesse estudo a associação positiva entre varfarina e fraturas deu-se na população masculina, mas não em mulheres. Além disso, uso de varfarina inferior a 1 ano não mostrou associação com aumento de fratura (35). Uma metanálise recente que comparou pacientes em uso de varfarina com outros anticoagulantes orais não antagonistas da vitamina K (DOACs) demonstrou menor risco de fratura (RR: 0.82, 95%CI: 0.73–0.93, P = 0.001) nos pacientes em uso de DOACs quando comparados aos pacientes em uso de varfarina (6). Outro estudo em pacientes com fibrilação atrial tratados com varfarina foram comparados aos pacientes em uso de DOACs. Os DOACs foram associados a uma incidência menor de qualquer fratura comparados a varfarina (3,1% vs. 3,8%), levando a um risco de fraturas 15% menor com o uso os DOACs. A incidência de fraturas maiores também foi significativamente menor com DOACs (2,3% vs. 2,8%) (36).

No entanto, alguns estudos não demonstraram aumento do risco de fraturas com a varfarina. Dados de um estudo que avaliou homens e mulheres idosas (> 65 anos) com uso crônico de varfarina por 1 ano (HR 1.08; 95%CI 0.87-1.35) ou 3 anos (HR 1.13 ;95%CI 0.84-1.50), não demonstraram associação com fraturas de quadril ou coluna (37).

### **3 HIPÓTESES**

Os pacientes em uso de varfarina apresentam menor densidade mineral óssea quando comparado aos pacientes que não fazem uso do medicamento.

Quanto maior tempo de uso da varfarina menor densidade mineral óssea.

Os pacientes em uso de varfarina apresentam menor quando comparados ao grupo controle.

### **4 JUSTIFICATIVA**

A osteoporose é uma doença silenciosa que pode levar a incapacidade e risco de morbimortalidade. Segundo a literatura médica, o uso de varfarina pode ser considerado como uma causa de osteoporose secundária. Visto que outras causas secundárias de osteoporose apresentam acometimento da qualidade óssea e que não existem até o momento estudos que avaliaram a qualidade óssea através do TBS dos pacientes em uso de varfarina a longo prazo, esse estudo irá trazer novas informações sobre o acometimento ósseo nesse grupo de pacientes. Os dados coletados e avaliados no estudo irão contribuir para o conhecimento científico e melhor manejo desse grupo de pacientes.

### **5 OBJETIVOS**

#### **5.1.1 Objetivo geral**

Este estudo teve como objetivos: comparar a DMO e o TBS de pacientes em uso de varfarina por mais de 1 ano em acompanhamento no ambulatório de Cardiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC/UFPR) com o grupo controle.

#### **5.1.2 Objetivos específicos**

Avaliar a associação com outros fatores clássicos de risco para osteoporose, hábitos de vida, fatores clínicos demográficos e tempo de uso nos pacientes em uso de varfarina comparado com grupo controle.

## 6 MATERIAL E MÉTODOS

Estudo transversal, controlado e descritivo, amostra por conveniência. Os pacientes em uso de varfarina por mais de 1 ano foram convidados a participar do estudo durante consulta de rotina na cardiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR), após explicação detalhada da relevância da pesquisa.

Estudo aprovado no comitê de ética em pesquisa sob o número 84042318.2.0000.0096 e todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

### 6.1 GRUPO VARFARINA

Durante 6 meses, no grupo em uso da varfarina (GV) foram incluídos homens de 25 a 65 anos em uso varfarina por 1 ano ou mais. Pacientes com causas secundárias conhecidas de osteoporose, como história de uso de corticoide, diabetes mellitus tipo 1 e 2, doenças inflamatórias e reumatológicas crônicas, hipertireoidismo, neoplasias, uso de anticonvulsivantes, hipogonadismo e insuficiência renal crônica (taxa de filtração glomerular estimada  $<60$  mL/min /1,73 m<sup>2</sup>), qualquer condição genética ou crônica conhecida por afetar a DMO ou um índice de massa corporal (IMC) de  $<18,5$  kg/m<sup>2</sup> e  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup>, foram excluídos. Após assinatura do TCLE o paciente foi convidado a realizar exame de DXA, no Serviço de Endocrinologia e Metabologia do HC-UFPR (SEMPR). Neste momento foi aplicado um questionário desenvolvido pelos pesquisadores para coleta de dados sobre a doença de base, uso da varfarina (tempo de uso e motivo de uso), hábitos de vida (tabagismo, etilismo, quedas no último ano, fraturas, consumo de produtos lácteos, história familiar de osteoporose, redução de altura e avaliação de atividade física pelo “*International Physical Activity Questionnaires*” (IPAQ) e afastar causas secundárias de osteoporose.

De acordo com o nível de atividade física segundo o questionário IPAQ foram considerados: Muito ativo (atividade física vigorosa 5 dias/semana e  $\geq 30$  minutos); Ativo (atividade física vigorosa  $\geq 3$  dias/semana e  $\geq 20$  minutos por sessão que não atinja valores do grupo anterior; ou caminhada  $\geq 5$  dias/semana e  $\geq 30$  minutos por sessão; ou qualquer atividade somada:  $\geq 5$  dias/semana e  $\geq 150$  minutos/semana); Irregularmente ativo aquele que não se encaixa em ativo ou muito ativo, mas pratica



mais de 10 minutos contínuos de atividade física durante a semana); Sedentário: aquele que não realizou nenhuma atividade física por pelo menos 10 minutos contínuos durante a semana.

## 6.2 GRUPO CONTROLE

O grupo controle (GC) foi composto por homens de 25 a 65 anos, voluntários que acompanham no ambulatório de Cardiologia do HC/UFPR e que nunca fizeram uso de anticoagulantes. Os mesmos critérios de exclusão foram aplicados ao GC e ao GV. Depois de assinar o TCLE, os membros do GC realizaram as mesmas avaliações que os pacientes do GV, exceto os dados de testes de laboratório.

## 6.3 ANÁLISE BIOQUÍMICA

As dosagens de cálcio (método arsenazo III, valor normal (VN) = 8,6-10,3 mg/dL), paratormônio (método quimioluminescência VN= 15-68 pg/mL), vitamina D 25OH (método imunoenensaio quimioluminescência classificada de acordo com a Endocrine Society: deficiência abaixo de 20 ng/ml, insuficiência entre 21-29 ng/ml e suficiência acima de 30 ng/mL), creatinina (método cinético picrato alcalino reação de jaffe, VN= 0,7-1,2mg/dL) com clearance de creatinina calculado pela fórmula Ckd-EPI, fósforo (método ultra-violeta fosfomolibdato, VN= 2,3-4,7 mg/dL) e albumina (método colorimétrico verde de bromocresol, VN= 3,5-5,0 mg/dL), foram coletados através de revisão de prontuário os dados mais próximos à avaliação clínica.

## 6.4 DENSIDADE MINERAL ÓSSEA E *TRABECULAR BONE SCORE*

A análise de DMO foi realizada por densitometria por dupla emissão de raios X (DXA) em aparelho HOLOGIC Horizon (serial number 201383, Bedford, USA) da coluna lombar (L1-L4), colo do fêmur e fêmur total e microarquitetura óssea avaliada pelo TBS. O TBS foi obtido de todas as avaliações lombares da DXA (L1-L4, não excluídas na medida de DMO) usando o software TBS iNsight versão 3.0.2.0 (MediMaps, Genebra, Suíça) e as versões 2.2 e 3.0.

De acordo com o Z-score em menores de 50 anos e do T-score em maiores de 50 anos, os pacientes foram classificados em normais (massa óssea normal ou

adequada para a idade) ou alterado (osteopenia, osteoporose ou DMO abaixo do esperado para a faixa etária) segundo os critérios da *ISCD* (38) e Associação Brasileira de Avaliação Óssea e Osteometabolismo (ABRASSO) (15). O TBS foi estratificado em: microarquitetura degradada ( $\leq 1.230$ ), microarquitetura parcialmente degradada ( $TBS > 1.23$  e  $< 1.31$ ) e normal ( $TBS \geq 1,31$ ) (27).

## 6.5 ANÁLISE DO FRAX

A probabilidade de fratura em 10 anos foi estimada utilizando a ferramenta FRAX® Brasil (18) com dados clínicos e dados de DMO de colo de fêmur com e sem correção de TBS em ambos os grupos (39).

## 6.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises de dados foram realizadas por meio do software estatístico R (R Core Team, 2019) versão 3.6.1 (40). A normalidade da amostra foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk. As variáveis quantitativas foram expressas em média  $\pm$  desvio padrão, enquanto as variáveis qualitativas foram expressas em frequência absoluta e relativa. Para testar as diferenças entre o GC e o GV, os testes não paramétricos de Mann-Whitney e o teste exato de Fisher foram usados para as variáveis numéricas e categóricas, respectivamente. A análise multivariada foi realizada por meio de regressão logística. *Odds ratios* e intervalos de confiança de 95% foram calculados. O nível de significância adotado no estudo foi de 5%, o que indica diferença significativa quando  $p \leq 0,05$ .

## 7 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

Apresentam-se nas páginas seguintes o artigo que foi submetido à revista *Archives of Osteoporosis*, de classificação B1 segundo avaliação da Plataforma Sucupira, com título “TRABELCULAR BONE SCORE (TBS) AND BONE MINERAL DENSITY IN PATIENTS WITH LONG TERM THERAPY WITH WARFARIN”, em 27/03/2020. Este artigo foi aceito e publicado na versão *online* dia 08/06/2020 (<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11657-020-00770-z>). O artigo está formatado segundo os parâmetros exigidos pelo periódico.

### TRABELCULAR BONE SCORE (TBS) AND BONE MINERAL DENSITY IN PATIENTS WITH LONG TERM THERAPY WITH WARFARIN

Júlia Vieira Oberger Marques<sup>1</sup>, Jeferson Zanovelli Nalevaiko<sup>2</sup>, Matheus Felipe Oliveira<sup>3</sup>, Arthur William Passos Raetsch<sup>3</sup>, Gustavo Lenci Marques<sup>2</sup>, Ricardo Rasmussen Petterle<sup>4</sup>, Carolina A. Moreira<sup>1</sup>, Victória Zeghbi Cochenski Borba<sup>1</sup>

- 1- Endocrine Division, Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (SEMPR), Curitiba, PR, Brazil
- 2- Cardiology Division, Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná – HC/UFPR, Curitiba, PR, Brazil
- 3- Medical student, Universidade Federal do Paraná (UFPR). Curitiba, PR, Brazil
- 4- Sector of Health Sciences, Medical School, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil

**Corresponding author: Júlia Vieira Oberger Marques**

**Av. Agostinho Leão Junior, 285 - Alto da Glória, Curitiba – PR, Brasil, 80030-110**

**ORCID 0000-0001-5610-9564**

**e-mail: [juliaoberger@gmail.com](mailto:juliaoberger@gmail.com)**

**Keywords: osteoporosis; warfarin; metabolic bone diseases; densitometry; trabecular bone score**

Júlia Vieira Oberger Marques, *Jeferson Zanovelli Nalevaiko*, Matheus Felipe Oliveira, Arthur William Passos Raetsch, Gustavo Lenci Marques, Ricardo Rasmussen Petterle, Carolina Aguiar Moreira and Victória Zeghbi Cochenski Borba declare that they have no conflict of interest.

**ABSTRACT**

*Summary* In this study we compared patients using the anticoagulant warfarin for more than a year with a control group with similar characteristics but without using the drug. We demonstrated worse BMD and bone quality by trabecular bone score (TBS) in patients using warfarin for more than one year.

*Introduction* Evaluate the bone mineral density (BMD) and the trabecular bone score (TBS) of patients taking warfarin for more than 1 year compared to a control group.

*Methods* Male patients aged 25-65 years in warfarin use for more than one year were included. Patients answered a questionnaire regarding lifestyle habits and realized a dual X-ray densitometry (DXA) (lumbar spine and hip) and TBS was evaluated.

*Results* From 96 patients invited, 33 patients accepted to participate and comprised the warfarin group (WG), 3 were excluded. The control group (CG) was composed of 21 individuals matched by age and race. The mean age of WG was  $57.0 \pm 7.6$  and in the CG  $54.0 \pm 10.6$  years ( $p = 0.095$ ). The BMD in WG was lower than in the CG in all sites (spine  $p < 0.001$ , total hip  $p = 0.001$ , and femoral neck  $p = 0.005$ ). A longer time of warfarin use increased the likelihood of having low BMD (OR= 1.239, CI 1.064-1.674;  $p = 0.01$ ), whereas high BMI decreased it (OR= 0.732, CI 0.533-0.918;  $p = 0.03$ ). The TBS was lower in WG than the CG ( $p = 0.04$ ). Lower TBS was associated with hypertension in both groups, and to the hip BMD (neck and total) ( $p < 0.005$ ) in the WG. In the multivariate analysis only hypertension ( $-0.10$ , CI  $-0.17 - -0.03$ ,  $p = 0.008$ ) and total hip BMD ( $0.26$ , CI  $0.07 - 0.46$ ,  $p = 0.009$ ) influenced TBS.

*Conclusion* We demonstrated an association between worsening of BMD and bone quality in patients taking warfarin for more than one year.

## INTRODUCTION

Warfarin anticoagulant, a vitamin K inhibitor, is used in many situations as prevention and/or treatment of primary or secondary thromboembolic diseases or events [1]. Despite its benefits, the literature indicates that warfarin has negative effects on bone mineral density (BMD) [2]. This occurs because vitamin K is an essential cofactor for the bone matrix formation, and the inhibition of vitamin K by warfarin leads to the formation of a demineralized matrix [3]. Therefore, studies revealed that patients who use this drug for more than one year can progress with reduced bone mass and fracture, reported in adults and children [4]. These studies are small, with a heterogeneous group of patients and many confounding factors [4-6]. The reduced bone mass impacts the quality of life and increase the mortality in these patients. To date, despite little data, warfarin compared to the new non-vitamin K inhibitors anticoagulants, showed a higher risk of fracture [7], higher reduction in bone volume, increased trabecular separation and increased bone turnover, which directly affects bone quality [8]. The trabecular bone score (TBS), a resource of the bone densitometry, can evaluate bone quality indirectly, comparable to parameters of bone biopsy [9]. It is possible that warfarin could reduce besides BMD, also the bone quality. However to date, there are no controlled studies with TBS to evaluate bone quality in patients using warfarin and the studies on BMD have great heterogeneity. For this reason, this study aimed to evaluate BMD and TBS in men taking warfarin for more than one year compared to a matched control group and to verify the possible association with other classical risk factors for osteoporosis, clinical features associated to the use of warfarin, compared to a control group.

## METHODS

A cross-sectional, controlled study involving male patients treated at the cardiology outpatient clinic of the Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR). The study was approved by the Ethics Committee on Human Research at our institution (84042318.2.0000.0096), all patients signed an informed consent form (ICF).

### *Studied population*

#### *Patients*

During 6 months, men ages 25-65 who had used warfarin for  $\geq 1$  year were included, comprising the warfarin group (WG). Patients with known secondary causes of osteoporosis, such as a history of corticoid use, type 1 and type 2 diabetes mellitus, chronic inflammatory and rheumatologic diseases, hyperthyroidism, neoplasm, use of anticonvulsants, hypogonadism and chronic renal failure (estimated glomerular filtration rate  $< 60$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>), as well as any

genetic or chronic condition known to affect BMD or a *body mass index (BMI)* of  $<18.5$  kg/m<sup>2</sup> and  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup>, were excluded.

Patients were invited to perform a dual-emission X-ray bone densitometry (DXA) at the Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (SEMPR). A questionnaire with structured interview developed by the researchers was used to collect the following data: baseline disease characteristics, comorbidities, use of warfarin (time of use and reason for use), lifestyle (smoking, alcohol consumption, falls in the last year, fractures, dairy products consumption in the diet, family history of osteoporosis, height reduction) and assessment of physical activity by the International Physical Activity Questionnaires (IPAQ). In accordance with the IPAQ questionnaire, patients were classified as very active (vigorous physical activity 5 days/week and  $\geq 30$  minutes per session), active (vigorous physical activity  $\geq 3$  days/week and  $\geq 20$  minutes per session; or walking  $\geq 5$  days/week and  $\geq 30$  minutes per session or any activity for more 150 minutes/week), irregularly active (more than 10 continuous minutes of physical activity during the week) or sedentary (did not perform any physical activity during the week).

#### *Controls*

The control group (CG) consisted of male volunteers ages 18 to 65 who were undergoing treatment at the cardiology clinic of the same hospital for other cardiovascular diseases and who had never used any anticoagulants. The same exclusion criteria were applied to the CG and the WG. After signing the ICF, CG members performed the same evaluations as WG members except for the laboratory tests.

#### *Biochemical analysis*

Laboratory results of the WG were collected from medical records closest to the evaluation or from a blood sample collected at the time of DXA evaluation: calcium (Arsenazo III method, normal value [VN] = 8.6-10.3mg/dl); parathyroid hormone (chemiluminescence VN = 15-68 pg/ml); 25 hydroxy vitamin D (25OHD) chemiluminescent immunoassay interpreted according to the Endocrine Society guideline deficiency ( $< 20$  ng/ml), insufficiency ( $\geq 20$ -29 ng/ml) and sufficiency ( $\geq 30$ ng/ml); creatinine (alkaline picrate kinetic method, Jaffe reaction, VN = 0.7-1.2 mg/dL); phosphorus (phosphomolybdate ultra violet method, VN = 2.3-4.7 mg/dl); albumin (green bromocresol colorimetric method, VN = 3.5-5,0 mg/dL) and glomerular filtration rate estimated using the CKD-EPI formula.

#### *Bone densitometry scan and trabecular bone score*

A BMD exam was performed using DXA in a HOLOGIC Horizon A machine (serial number 201383, Bedford, USA), to analyze the lumbar spine (L1-L4), femoral neck, and total femur.

The BMD results were expressed as  $\text{g}/\text{cm}^2$  and evaluated according to the recommendation of the International Society for Clinical Densitometry (ISCD). The patients BMD was classified as normal (BMD normal or appropriate for age) or low (osteopenia, osteoporosis, or BMD below that expected for the age range).

TBS was obtained from all DXA lumbar scans (L1-L4 not excluded in the BMD measurement) using the TBS iNsight software version 3.0.2.0 (MediMaps, Geneva, Switzerland), as well as versions 2.2 and 3.0. It was stratified according to the studies conducted in the male population in Latin America. In addition, following the DXA manufacturer, the microarchitecture was considered degraded when values were  $\leq 1.230$ , partially degraded when values were  $> 1.23$  and  $< 1.31$ , and normal when they were  $\geq 1.31$  [10].

#### *FRAX analysis*

The 10-year probability of fractures was estimated using the FRAX® Brazil tool [11] with and without TBS correction in both groups. For the WG, FRAX was evaluated considering the use of warfarin as a secondary cause of osteoporosis [12].

#### *Statistical analysis*

All data analyses were performed using the statistical software R (R Core Team, 2019) version 3.6.1. Sample normality was verified using the Shapiro–Wilk test. Quantitative variables were expressed in average  $\pm$  standard deviation, whereas qualitative variables were expressed in absolute and relative frequency. To test the differences between the CG and the WG, Mann–Whitney non-parametric tests and Fisher’s exact test were used for numerical and categorical variables, respectively. A multivariate analysis was performed using logistic regression. Odds ratios and 95% confidence intervals were calculated. The level of significance adopted in the study was 5%, which indicates a significant difference when  $p \leq 0.05$ .

## **RESULTS**

Among all patients at the cardiology clinic who used anticoagulants, 93 were selected to participate in the study. Of these, 36 accepted, but 3 were excluded due to less than 1 year of warfarin use. The mean age of the 33 patients included in the WG was  $57.0 \pm 7.6$  years, and 21 patients were included in the CG, mean age  $54.0 \pm 10.6$  years. The mean BMI of the WG was  $27.00 \pm 4.45$   $\text{kg}/\text{m}^2$ . Most of them were overweight or obese, did not smoke, had low calcium intake, were sedentary or irregularly active, and had hypertension. There were no differences in all these variables compared to the CG, including a family history of osteoporosis or past fractures. However, 6 patients (18%) from the WG reported a loss of more than 5 cm in height. The median time of warfarin use was 7.47 (1-40) years, and the most frequent indications for



the use of warfarin were atrial fibrillation in 13 (39%) patients and cardiac valve replacement in 12 (36%) patients (Table 1).

*Table 1. Clinical characteristics of patients and controls.*

	<b>WARFARIN GROUP (N=33)</b>	<b>CONTROL GROUP (N=21)</b>	<b>P VALUE</b>
<b>AGE (YEARS)</b>	57.0 ± 7.6	54.0 ± 10.6	p = 0.095
<b>RACE</b>			p = 1.000
<b>CAUCASIAN</b>	96% (32)	100% (21)	
<b>BLACK</b>	4% (1)		
<b>BMI (KG/M<sup>2</sup>)</b>	27.00 ± 4.45	27.00 ± 4.47	p = 0.369
<b>CURRENT SMOKERS</b>	9% (3)	19% (4)	p = 0.411
<b>PHYSICAL ACTIVITY</b>			p = 0.769
<b>SEDENTARY</b>	39% (13)	47% (10)	
<b>VERY ACTIVE</b>	30% (10)	28% (6)	
<b>ACTIVE</b>	6% (2)	9% (2)	
<b>IRREGULARLY ACTIVE</b>	24% (8)	14% (3)	
<b>CALCIUM INTAKE (MG/DAY)</b>	300 ± 264	300 ± 401	p = 0.4721
<b>HYPERTENSION</b>	69% (23)	47% (10)	p = 0.319
<b>FAMILY HISTORY OF OSTEOPOROSIS</b>	15% (5)	28% (6)	p = 0.397
<b>PAST ATRAUMATIC FRACTURES</b>	9% (3)	4% (1)	p = 1.00

*BMI =body mass index*

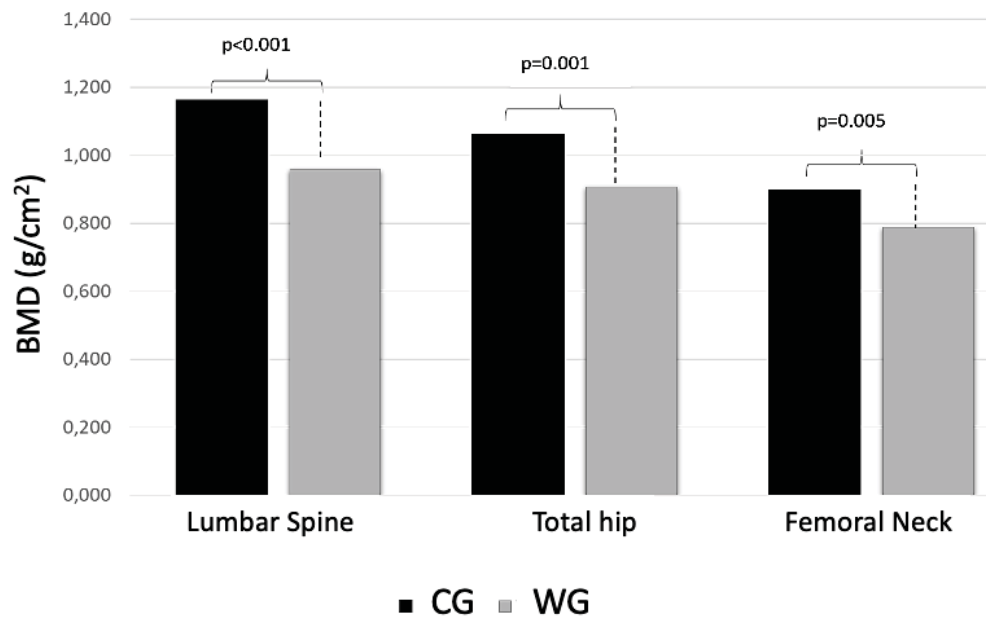
The mean values of the laboratory tests in the WG were calcium  $9.20 \pm 0.48$ mg/dL, albumin  $4.00 \pm 0.33$ mg/dL, phosphorus  $3.00 \pm 0.54$ mg/dL, estimated glomerular filtration rate  $80.0 \pm 13.4$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, prothrombin time (INR)  $2.91 \pm 1.07$ , parathyroid hormone  $67 \pm 32.2$ pg/mL and vitamin D  $24.9$  (14-59.9) ng/mL (60% with insufficiency, 20% with sufficiency and 20% with deficiency). Hyperparathyroidism secondary to vitamin D deficiency was present in 11 patients (40%), and no patients had primary hyperparathyroidism. The laboratory parameters were not associated with BMD or TBS in the WG.

### **Bone mineral density**

BMD was lower in the WG compared to the CG in all sites analyzed ( $p < 0.05$ ) (Figure 1). In the WG, 15 (45%) patients had normal BMD, 18 (54%) had low BMD, 11 (30%) had

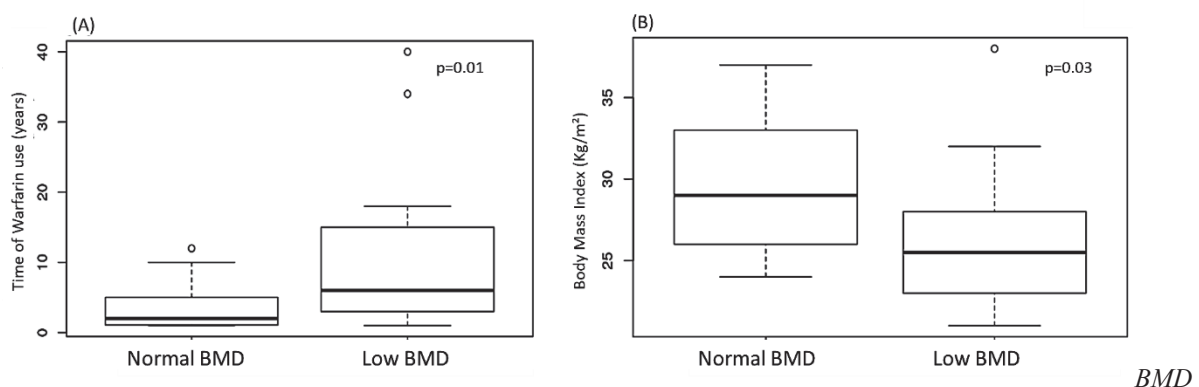
osteopenia, 6 (18%) had osteoporosis and 2 (6%) had low bone mass for their age. Low BMD was associated with longer warfarin use ( $p=0.01$ ) even when the 2 outliers were excluded ( $p=0.04$ ), as well as lower BMI ( $p=0.03$ ) and lower creatinine ( $p=0.001$ ). There was also a tendency toward higher PTH ( $p=0.05$ ) and low TSH ( $p=0.06$ ) (Figure 2).

**Figure 1:** Bone mineral density in the warfarin and control groups.



BMD = bone mineral density; CG= control group; WG= warfarin group

**Figure 2:** Time of warfarin use (A) and body mass index(B) according to bone mineral density



= bone mineral density.

The multivariate analysis considered low BMD as the dependent variable and all variables with a significant difference in the univariate analysis (creatinine, PTH, TSH, BMI, and time of warfarin use) as independent variables. After logistic regression analysis, long-term warfarin use increased the likelihood of having low BMD (osteoporosis, osteopenia and low bone mass)

(OR= 1.239; 97.5% CI, 1.064-1.674; p = 0.01), whereas having a high BMI decreased it (OR= 0.732; 97.5% CI, 0.533-0.918; p = 0.03).

### **Trabecular bone score**

The mean TBS value was much lower in the WG ( $1.284 \pm 0.109$ ) than in the CG ( $1.354 \pm 0.115$ ),  $p = 0.04$  (Figure 3). *This study was limited by the low number of patients and lack of laboratory and fracture evaluation in the CG.* (Figure 4).

In the univariate analysis patients with hypertension had lower TBS in the WG ( $p = 0.040$ ), as well as in the CG ( $p = 0.010$ ), where TBS was associated with age ( $p = 0.02$ ). In the WG, TBS was correlated with BMD in total hip ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) [ $p=0.0439$ ,  $R=0.3529$ ], total hip T-score [ $p=0.044$ ,  $R=0.3819$ ], femoral neck ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) [ $p=0.0419$ ,  $R=0.3560$ ], and femoral neck T-score [ $p=0.037$ ,  $R= 0.3951$ ]. In the WG family history of osteoporosis showed a tendency to be associated to lower TBS ( $p = 0.053$ ).

The multivariate analysis considering TBS as the dependent variable, and age, hypertension, time of warfarin use, BMI, family history of osteoporosis, past fractures, and BMD (spine and hip) as independent variables, showed that only the presence of hypertension ( $-0.10$ , CI  $-0.17$ - $-0.03$ ,  $p=0.008$ ) and the total hip BMD ( $0.26$ , CI  $0.07$  -  $0.46$ ,  $p=0.009$ ) keep the significance.

**Figure 3:** *Trabecular bone score in warfarin and control groups.*

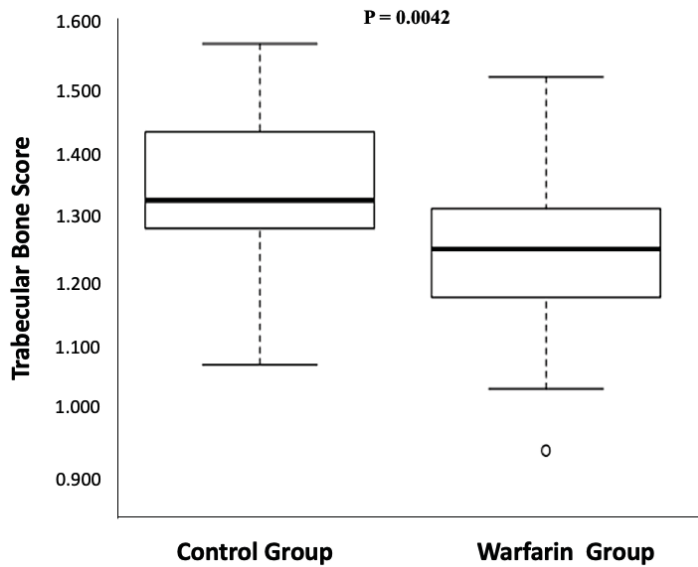
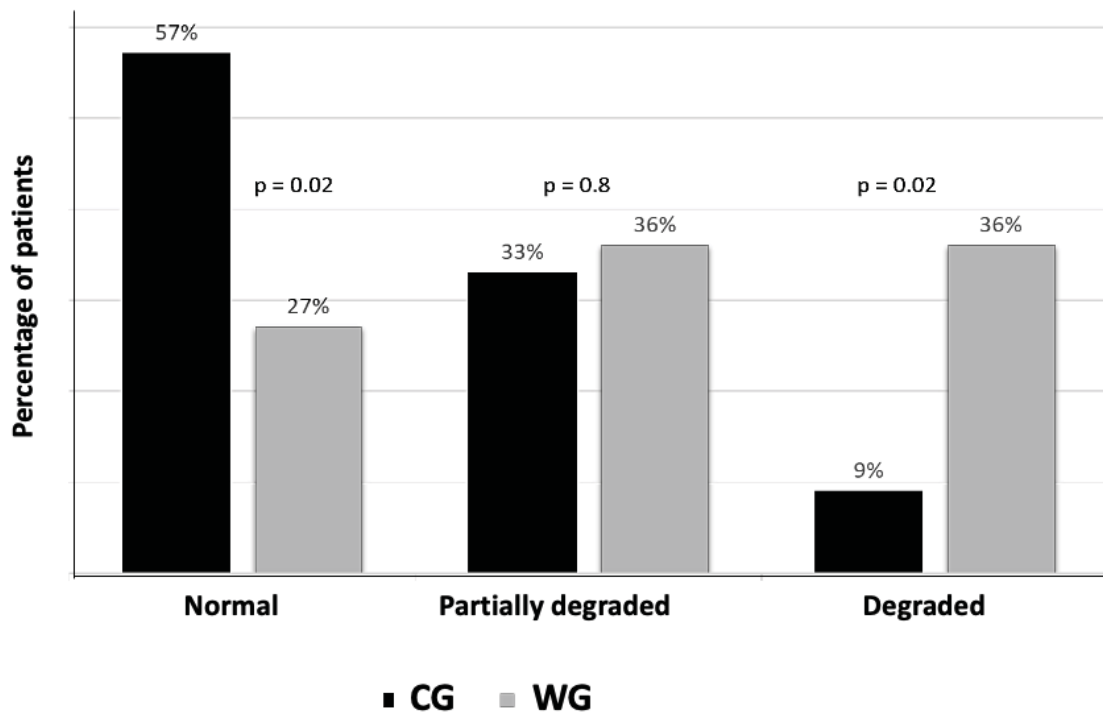


Figure 4: Trabecular bone score stratification in the warfarin and control groups.



CG = control group; WG = warfarin group.

#### FRAX

Although the calculated FRAX Brazil score was low in both groups, the WG had a higher calculated risk compared to CG. The median risk for major fracture was 6.4% (1.0 - 7.2%) and 1.7% (1.6 - 3.6%) ( $p=0.061$ ), and for hip fracture the median risk was 0.2% (0 - 4.2%) and 1.7% (1.3 - 4.9%) ( $p=0.011$ ) for WG and CG, respectively. When FRAX was corrected by TBS, it

was also higher in the WG compared to the CG for major ( $p=0.011$ ) and hip fractures ( $p<0.001$ ), however, TBS did not change the calculated risk of the WG.

## DISCUSSION AND CONCLUSION

This study showed that the patients who used warfarin had lower BMD and more degraded TBS in comparison to the control group. The only published studies that have evaluated BMD were small, heterogeneous, and affected by several confounding factors [2,4,5,7]. To date, no study that evaluated osteoporosis risk factors and assessed TBS has been published.

In a homogeneous cohort, our results showed a reduction in BMD in all sites in patients using warfarin, which is compatible with the literature [8,2,6]. However, this association is not definitive. A meta-analysis of cross-sectional studies showed a negative association of anticoagulant use with ultra-distal radius BMD, but not with spine or hip BMD [13]. Indeed, in another cohort of elderly men, researchers found no such association [14].

We found the lowest bone quality evaluated by TBS in 72% of the WG sample (degraded and partially degraded TBS) when compared with the CG. To date, TBS value in the WG is not mentioned in the literature.

The association of lower BMD with time of warfarin use remains inconclusive, although demonstrated previously in patients with long-term warfarin use for mechanical valve replacement [2]. A cohort of men taking warfarin for 4 months or more showed no association between BMD and time of warfarin use [8]. Longer warfarin use may compromise osteocalcin formation to a greater degree and therefore worsen bone mineralization [15].

Despite data in the literature showed an association between warfarin and BMD, no human studies have evaluated bone quality using TBS. Fusaro et al. [5] described increased trabecular separation and reduced bone volume in a bone biopsy study of warfarin-treated rats, which corroborates our TBS data.

The multivariate analysis confirmed the correlation of hip BMD with worse TBS, as demonstrated before [17], and with hypertension. Hypertension indeed, was associated with TBS, but not with low BMD. To date, no studies have correlated bone quality using TBS and hypertension. However, a recent meta-analysis demonstrated that hypertension was associated with low BMD [18], although the relationship among warfarin use, hypertension, and bone mass is not described in the literature. The mechanism that leads to bone mass alteration with warfarin use has not yet been elucidated, but this may result from an interaction between other medications in use, such as loop diuretics and calcium channel antagonists [19].

In our study, there was no correlation between BMD of the lumbar spine and TBS, which could be explained by the degenerative lumbar spine disease as already described [20].

In this cohort lower BMI was associated with lower BMD, described before in children in long term use of warfarin [21]. Indeed, in women also in long term use of warfarin, high BMI was protective for vertebral and all osteoporotic fractures combined [14].

Although we excluded diseases associated with bone loss, 40% of WG had secondary hyperparathyroidism detected by the laboratory evaluation, probably due to hypovitaminosis D, which was present in 80% of the sample. This could be a confounding factor, but the statistical analysis showed no association of vitamin D levels or secondary hyperparathyroidism with BMD or TBS. The prevalence studies of vitamin D deficiency and insufficiency in southern Brazil showed normal values in around 20-50% of the population, depending on the time of year, similar to which was seen in our study [22,23].

The FRAX tool corrected or not by TBS, seemed in this specific population, to be a good calculator to estimate future fractures, as it was different between groups, but it needs future confirmation due to lack of data evaluating FRAX in patients using warfarin. A meta-analysis comparing short term use of unfractionated heparin, oral vitamin K antagonists or placebo, did not show the difference between them in the short term [24].

This study was limited by the low number of patients and lack of laboratory and fracture evaluation in the CG. However, it has great strengths and it differs from other previously published studies. The groups were homogeneous regarding sex and age, which avoided the interference of menopause. The study also excluded patients with diseases known to interfere with bone mass and showed, for the first time, a TBS evaluation with warfarin, which requires further confirmation.

We concluded that warfarin use for more than one year affects bone density and quality as evaluated using BMD and TBS. This transversal study opens a new route to better understanding the effects of anticoagulants on bone tissue.

*Júlia Vieira Oberger Marques, Jeferson Zanovelli Nalevaiko, Matheus Felipe Oliveira, Arthur William Passos Raetsch, Gustavo Lenci Marques, Ricardo Rasmussen Petterle, Carolina Aguiar Moreira and Victória Zeghbi Cochenski Borba declare that they have no conflict of interest.*

## REREFENCES

1. Tufano, Antonella, et al. "Oral anticoagulant drugs and the risk of osteoporosis: new anticoagulants better than old?." *Seminars in thrombosis and hemostasis*. Vol. 41. No. 04. Thieme Medical Publishers, 2015.
2. Rezaieyazdi, Zahra, et al. "Reduced bone density in patients on long-term warfarin." *International journal of rheumatic diseases* 12.2 (2009): 130-135.
3. Sato Y, Honda Y, Kunoh H, Oizumi K. Long-term oral anticoagulation reduces bone mass in patients with previous hemispheric infarction and nonrheumatic atrial fibrillation. *Stroke*. 1997 Dec;28(12):2390-4.
4. Namba S, Yamaoka-Tojo M, Hashikata T, Ikeda Y, Kitasato L, Hashimoto T, Shimohama T, Tojo T, Takahira N, Masuda T, Ako J. Long-term warfarin therapy and biomarkers for osteoporosis and atherosclerosis. *BBA Clin*. 2015 Aug 12;4:76-80. doi: 10.1016/j.bbacli.2015.08.002. eCollection 2015 Dec.
5. Fusaro, Maria, et al. "Differential effects of dabigatran and warfarin on bone volume and structure in rats with normal renal function." *PLoS one* 10.8 (2015): e0133847.
6. Barnes C, Newall F, Ignjatovic V, Wong P, Cameron F, Jones G, Monagle P. Reduced bone density in children on long-term warfarin. *Pediatr Res*. 2005 Apr;57(4):578-81. Epub 2005 Feb 4.
7. Gu ZC, Zhou LY, Shen L, Zhang C, Pu J, Lin HW, Liu XY. Non-vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants vs. Warfarin at Risk of Fractures: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Front Pharmacol*. 2018 Apr 10;9:348. doi: 10.3389/fphar.2018.00348. eCollection 2018.
8. Philip WJ, Martin JC, Richardson JM, Reid DM, Webster J, Douglas AS. Decreased axial and peripheral bone density in patients taking long-term warfarin. *QJM*. 1995 Sep;88(9):635-40.
9. Fusaro M, Mereu MC, Aghi A, Iervasi G, Gallieni M. Vitamin K and bone. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2017 May-Aug;14(2):200-206. doi: 10.11138/ccmbm/2017.14.1.200. Epub 2017 Oct 25.
10. McCloskey EV, Odén A, Harvey NC, Leslie WD, Hans D, Johansson H, Barkmann R, Boutroy S, Brown J, Chapurlat R, Elders PJM, Fujita Y, Glüer CC, Goltzman D, Iki M, Karlsson M, Kindmark A, Kotowicz M, Kurumatani N, Kwok T, Lamy O, Leung J, Lippuner K, Ljunggren Ö, Lorentzon M, Mellström D, Merlijn T, Oei L, Ohlsson C, Pasco JA, Rivadeneira F, Rosengren B, Sornay-Rendu E, Szulc P, Tamaki J, Kanis JÁ. A Meta-Analysis of Trabecular Bone Score in Fracture Risk Prediction and Its Relationship to FRAX. *J Bone Miner Res*. 2016;31(5):940.
11. Zerbini CAF, Szejnfeld VL, Abergaria BH, McCloskey EV, Johansson H, Kanis JA. Incidence of hip fracture in Brazil and the development of a FRAX model. *Arch Osteoporos*. 2015;10(1):1-7.
12. Zerbini CAF, Szejnfeld VL, Abergaria BH, McCloskey EV, Johansson H, Kanis JA (2015) Calculadora de FRAX. Publishing ABRASSO. <https://abrasso.org.br/calculadora/calculadora>. Accessed 11 December 2019.
13. Caraballo PJ, Heit JA, Atkinson EJ, Silverstein MD, O'Fallon WM, Castro MR, Melton LJ. Long-term use of oral anticoagulants and the risk of fracture. *Arch Intern Med*. 1999 Aug 9-23;159(15):1750-6.
14. Woo C, Chang LL, Ewing SK, Bauer DC. Single-point assessment of warfarin use and risk of osteoporosis in elderly men. *J Am Geriatr Soc*. 2008 Jul;56(7):1171-6. doi: 10.1111/j.1532-5415.2008.01786.x. Epub 2008 Jun 10.
15. Schwalfenberg GK. Vitamins K1 and K2: The Emerging Group of Vitamins Required for Human Health. *J Nutr Metab*. 2017;2017:6254836. doi: 10.1155/2017/6254836. Epub 2017 Jun 18.
16. Menon RK, Gill DS, Thomas M, Kernoff PB, Dandona P. Impaired carboxylation of osteocalcin in warfarin-treated patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 1987 Jan;64(1):59-61.
17. Bonaccorsi G, Cafarelli FP, Cervellati C, et al. A new corrective model to evaluate TBS in obese post-menopausal women: a cross-sectional study [published online ahead of print, 2019 Aug 30]. *Aging Clin Exp Res*. 2019;10.1007/s40520-019-01317-0. doi:10.1007/s40520-019-01317-0

18. Ye Z, Lu H, Liu P. Association between essential hypertension and bone mineral density: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;40(8):68916-68927. doi: 10.18632/oncotarget.20325. eCollection 2017 Sep 15.
19. Us A. The effects of diuretics on mineral and bone metabolism. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2018;15(4):291-297. doi: 10.17458/per.vol15.2018.a.DiureticsMineralBoneMetabolism.
20. Padlina I, Gonzalez-Rodriguez E, Hans D, Metzger D, Stoll D, Aubry-Rozier B, Lamy O. The Lumbar Spine Age-Related Degenerative Disease Influences the BMD Not the TBS: The Osteolaus Cohort. *Osteoporos Int*. 2017 Mar;28(3):909-915. doi: 10.1007/s00198-016-3829-7. Epub 2016 Nov 30.
21. Avila ML, Pullenayegum E, Williams S, Shammas A, Stimec J, Sochett E, Marr K, Brandão LR. Timing of low bone mineral density and predictors of bone mineral density trajectory in children on long-term warfarin: a longitudinal study. *Osteoporos Int*. 2016 Apr;27(4):1547-1557. doi: 10.1007/s00198-015-3411-8. Epub 2015 Nov 16.
22. Gobbi B, Roncada C, Rodrigues AD. Avaliação de vitamina D por estação do ano em adultos de uma cidade do Sul do Brasil. *Rev Bras Anal Clin*. 2016; 48 (4): 341-5. doi: 10.21877/2448-3877.201600482.
23. Santos BR, Mascarenhas LP, Satler F, Boguszewski MC, Spritzer PM. Vitamin D deficiency in girls from South Brazil: a cross-sectional study on prevalence and association with vitamin D receptor gene variants. *BMC Pediatr*. 2012;12:62. Published 2012 Jun 8. doi:10.1186/1471-2431-12-62.
24. Gajic-Veljanoski O, Phua CW, Shah PS, Cheung AM. Effects of Long-Term Low-Molecular-Weight Heparin on Fractures and Bone Density in Non-Pregnant Adults: A Systematic Review With Meta-Analysis. *J Gen Intern Med*. 2016 Aug;31(8):947-57. doi: 10.1007/s11606-016-3603-8. Epub 2016 Feb 19. PMID: 26895998; PMCID: PMC4945546.



## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo avaliou a DMO e o TBS de pacientes usuários de varfarina em comparação com pacientes controles. Esse estudo foi um importante marco na avaliação dos efeitos ósseos causados pela varfarina, pois é o primeiro estudo a avaliar indiretamente a qualidade óssea dos pacientes através do TBS.

Nossos resultados permitem a formulação de uma narrativa sobre o uso de varfarina a longo prazo (maior que 1 ano) e a massa óssea.

O uso do anticoagulante inibidor da vitamina K (varfarina) em pacientes com doenças cardíacas comparados aos pacientes com características clínicas semelhantes, mas sem uso do anticoagulante, é capaz de exercer efeitos negativos na saúde óssea. O efeito provável para tal achado baseia-se no fato de que a varfarina inibindo a vitamina K leva a formação de uma matriz óssea desmineralizada por conta do acúmulo de osteocalcina descarboxilada.

À luz das características clínicas dos grupos, não houve diferenças significativas, o que tornou os grupos possíveis de comparação. Optamos por grupos homogêneos sem interferência de fatores clínicos que poderiam acarretar viés de seleção e não incluímos mulheres pelo risco de confusão com a perda óssea induzida pela menopausa.

O nosso estudo demonstrou menor DMO nos pacientes usuários do medicamento e isso foi associado ao tempo de uso da varfarina sugerindo que o uso crônico pode afetar em maior grau a mineralização óssea.

Além dos dados de menor densidade óssea nos usuários de varfarina que já haviam sido descritos na literatura, a inibição da vitamina K leva a inibição da vitamina K, adicionalmente, parece levar a um comprometimento da qualidade óssea, como foi aqui demonstrado, pela avaliação indireta desta através do TBS. O grupo varfarina demonstrou menores valores de TBS o que significa maior degradação da microarquitetura óssea, dado este relacionado na literatura à maior propensão a fraturas e consequente morbimortalidade nesse grupo. Após análise multivariada, o pior TBS correlacionou-se a presença de HAS, dado esse não descrito anteriormente na literatura que necessita de maiores estudos.

O risco de fraturas dos pacientes em uso de varfarina e controle foi estimado através da ferramenta FRAX corrigida ou não pelo TBS. Demonstramos que a ferramenta pode ser uma boa calculadora para estimar fraturas no grupo usuário de varfarina, pois ela foi diferente entre os dois grupos e demonstrou maior risco de fraturas em pacientes usuários de varfarina. Esse dado ainda precisa de confirmação, uma vez que não existem outros estudos que avaliando o FRAX nessa população.

A importância dos nossos dados para a comunidade médica é grande, pois foi o primeiro estudo que avaliou indiretamente a qualidade óssea pelo TBS nesse grupo homogêneo de pacientes. O uso do TBS nesse grupo pode revelar alterações na microarquitetura óssea não observados através da DMO. A DMO pode apresentar-se normal, porém por dano na mineralização óssea e conseqüentemente na microarquitetura óssea o TBS pode demonstrar risco aumentado de fraturas e osteoporose secundária nesse grupo. Esses resultados sugerem à comunidade médica atenção redobrada ao osso do paciente usuário de varfarina com foco na prevenção de fraturas, perda da massa óssea, cálculo do FRAX e rastreamento com DXA e TBS quando possível.

Este estudo foi limitado pelo baixo número de pacientes, pela falta de avaliação laboratorial no GC e pela falta na avaliação de fraturas vertebrais nos grupos. No entanto, tem grandes pontos fortes e difere de outros estudos publicados anteriormente. Aqui os grupos foram homogêneos quanto ao sexo e à idade, o que evitou a interferência da menopausa. O estudo também excluiu pacientes com doenças que sabidamente interferem na massa óssea e mostrou, pela primeira vez, uma avaliação do TBS em pacientes usuários de varfarina.

## 8.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Devido a dificuldades técnicas e uso de dados do prontuário, não conseguimos avaliar fraturas vertebrais através de radiografia de coluna vertebral ou *Vertebral Fracture Assessment* (VFA) nos grupos de estudo. Sugerimos que esse ponto seja explorado em trabalhos futuros.

Além disso, sugerimos também avaliação de dados laboratoriais do grupo controle a qual não foi possível no nosso trabalho.

Adicionalmente, a correlação negativa entre TBS e a presença de HAS foi um dado observado no nosso trabalho e que precisa de confirmação por estudos desenhados para esse fim.

Sugerimos também que novos estudos que avaliem a qualidade óssea através do TBS incluam pacientes em uso dos novos anticoagulantes orais diretos (DOACS), dados ainda não disponíveis na literatura e que podem nortear a escolha do anticoagulante ideal ao paciente.

## 9 CONCLUSÕES

Em conclusão:

- a) Demonstramos uma pior DMO (coluna e fêmur) e TBS nos pacientes em uso de varfarina por mais de 1 ano quando comparados ao grupo controle.
- b) Os valores da DMO correlacionaram-se negativamente ao tempo de uso de varfarina.
- c) Dentre os fatores clínicos avaliados, houve correlação negativa entre DMO do quadril e TBS, entre DMO e a presença de hipertensão, e correlação positiva entre DMO e IMC.
- d) A redução da DMO e TBS nos pacientes usuários de crônicos de varfarina pode configurar que o uso prolongado desta droga pode ser uma causa secundária potencial de osteoporose nesta população. Esses dados podem justificar um risco aumentado de fraturas nesses pacientes.

## REFERÊNCIAS

1. Tufano A, Coppola A, Minno G Di, Contaldi P, Franchini M. "Oral anticoagulant drugs and the risk of osteoporosis: new anticoagulants better than old?." *Seminars in thrombosis and hemostasis*. Vol. 41. No. 04. Thieme Medical Publishers, 2015.
2. Rezaieyazdi Z, Falsoleiman H, Khajehdaluae M. "Reduced bone density in patients on long-term warfarin." *International journal of rheumatic diseases* 12.2 (2009): 130-135.
3. Sato Y, Honda Y, Kunoh H, Oizumi K. Long-term oral anticoagulation reduces bone mass in patients with previous hemispheric infarction and nonrheumatic atrial fibrillation. *Stroke*. 1997 Dec;28(12):2390-4.
4. Namba S, Yamaoka-Tojo M, Hashikata T, Ikeda Y, Kitasato L, Hashimoto T, Shimohama T, Tojo T, Takahira N, Masuda T, Ako J. Long-term warfarin therapy and biomarkers for osteoporosis and atherosclerosis. *BBA Clin*. 2015 Aug 12;4:76-80. doi: 10.1016/j.bbacli.2015.08.002. eCollection 2015 Dec.
5. Barnes C, Newall F, Ignjatovic V, Wong P, Cameron F, Jones G, Monagle P. Reduced bone density in children on long-term warfarin. *Pediatr Res*. 2005 Apr;57(4):578-81. Epub 2005 Feb 4.
6. Gu ZC, Zhou LY, Shen L, Zhang C, Pu J, Lin HW, Liu XY. Non-vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants vs. Warfarin at Risk of Fractures: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Front Pharmacol*. 2018 Apr 10;9:348. doi: 10.3389/fphar.2018.00348. eCollection 2018.
7. Philip WJ, Martin JC, Richardson JM, Reid DM, Webster J, Douglas AS. Decreased axial and peripheral bone density in patients taking long-term warfarin. *QJM*. 1995 Sep;88(9):635-40.
8. Hans D, Barthe N, Boutroy S, Pothuaud L, Winzenrieth R, Krieg M. Correlations Between Trabecular Bone Score , Measured Using Anteroposterior Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Acquisition , and 3-Dimensional Parameters of Bone Microarchitecture : An Experimental Study on Human Cadaver Vertebrae. *J Clin Densitom* [Internet]. 2011;14(3):302–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jocd.2011.05.005>
9. Kanis JA, Melton LJ, Christiansen C, Johnston CC, Khaltaev N. The Diagnosis of Osteoporosis. 1994;9(8):1137–41.
10. Guidelines for preclinical evaluation and clinical trials in osteoporosis. World Health Organization Geneva; 1999.
11. Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2006 Dec;17(12):1726-33. doi: 10.1007/s00198-006-0172-4. Epub 2006 Sep 16. PMID: 16983459.
12. Pinheiro MM et al. Risk factors for osteoporotic fractures and low bone density in pre and postmenopausal women. *Rev. Saúde Pública* [online]. 2010, vol.44, n.3 [cited 2020-11-29], pp.479-485. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89102010000300011&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102010000300011&lng=en&nrm=iso). ISSN 0034-8910. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102010000300011>.
13. Stolnicki B, Oliveira LG. Para que a primeira fratura seja a última. *Rev Bras Ortop* 2016; 51(2):121-126.

14. WHO scientific group on the assessment of osteoporosis at primary health, 2004.
15. Radominski SC, Bernardo W, Paula AP, Albergaria BH, Moreira C, Fernandes CE, Castro CHM, Zerbini CAF, Domiciano DS, Mendonça LMC, Pompei LM, Bezerra MC, Loures MAR, Wender MCO, Lazaretti-Castro M, Pereira RMR, Maeda SS, Szejnfeld VL, Borba VZC. Brazilian guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis. *Rev Bras Reumatol Engl Ed.* 2017;57 Suppl 2:452-466. English, Portuguese. doi: 10.1016/j.rbre.2017.07.001. Epub 2017 Aug 21. PMID: 28838768.
16. Siris ES, Adler R, Bilezikian J, Bolognese M, Dawson-Hughes B, Favus MJ, Harris ST, Jan de Beur SM, Khosla S, Lane NE, Lindsay R, Nana AD, Orwoll ES, Saag K, Silverman S, Watts NB. The clinical diagnosis of osteoporosis: a position statement from the National Bone Health Alliance Working Group. *Osteoporos Int.* 2014 May;25(5):1439-43. doi: 10.1007/s00198-014-2655-z. Epub 2014 Feb 28. PMID: 24577348; PMCID: PMC3988515.
17. FRAX Tool. Instrumento de avaliação do risco de fratura [Internet]. Sheffield: Center for Metabolic Bone Diseases; 2008. Disponível em: <https://www.shef.ac.uk/FRAX/tool.jsp?lang=pt>.
18. Zerbini CAF, Szejnfeld VL, Abergaria BH, McCloskey EV, Johansson H, Kanis JA. Incidence of hip fracture in Brazil and the development of a FRAX model. *Arch Osteoporos.* 2015;10(1):1-7.
19. Painter SE, Kleerekoper M, Camacho PM. Secondary osteoporosis: a review of the recent evidence. *Endocr Pract.* 2006 Jul-Aug;12(4):436-45. doi: 10.4158/EP.12.4.436. PMID: 16901802.
20. Harper KD, Weber TJ. Secondary osteoporosis. Diagnostic considerations. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1998 Jun;27(2):325-48. doi: 10.1016/s0889-8529(05)70008-6. PMID: 9669141.
21. Cairns JR, Price PA. Direct demonstration that the vitamin K-dependent bone Gla protein is incompletely gamma-carboxylated in humans. *J Bone Miner Res.* 1994 Dec;9(12):1989-97. doi: 10.1002/jbmr.5650091220. PMID: 7872066.
22. Ishii H, Kurihara S, Hirai K, Yanai K, Ookawara S, Morishita Y. Warfarin-induced impairment of bone material quality in a patient undergoing maintenance hemodialysis: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2020 Jun 19;99(25):e20724. doi: 10.1097/MD.00000000000020724. PMID: 32569210; PMCID: PMC7310883.
23. Booth SL, Centi A, Smith SR, Gundberg C. The role of osteocalcin in human glucose metabolism : marker or mediator ? *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2012;9(1):43–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2012.201>
24. Huang HK, Liu PP, Hsu JY, Lin SM, Peng CC, Wang JH, Yeh JI, Loh CH. Risk of Osteoporosis in Patients With Atrial Fibrillation Using Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants or Warfarin. *J Am Heart Assoc.* 2020 Jan 21;9(2):e013845. doi: 10.1161/JAHA.119.013845.
25. Woo C, Chang LL, Ewing SK, Bauer DC. Single-point assessment of warfarin use and risk of osteoporosis in elderly men. *J Am Geriatr Soc.* 2008 Jul;56(7):1171-6. doi: 10.1111/j.1532-5415.2008.01786.x. Epub 2008 Jun 10.
26. Silva BC, Leslie WD, Resch H, Lamy O, Lesnyak O, Binkley N, et al. Trabecular Bone Score : A Noninvasive Analytical Method Based Upon the DXA Image. 2014;29(3):518–30.
27. McCloskey EV, Odén A, Harvey NC, Leslie WD, Hans D, Johansson H, Barkmann R, Boutroy S, Brown J, Chapurlat R, Elders PJM, Fujita Y, Glüer CC,

- Goltzman D, Iki M, Karlsson M, Kindmark A, Kotowicz M, Kurumatani N, Kwok T, Lamy O, Leung J, Lippuner K, Ljunggren Ö, Lorentzon M, Mellström D, Merlijn T, Oei L, Ohlsson C, Pasco JA, Rivadeneira F, Rosengren B, Sornay-Rendu E, Szulc P, Tamaki J, Kanis JA. A Meta-Analysis of Trabecular Bone Score in Fracture Risk Prediction and Its Relationship to FRAX. *J Bone Miner Res.* 2016 May;31(5):940-8. doi: 10.1002/jbmr.2734. Epub 2015 Nov 19. PMID: 26498132.
28. Pothuau L, Carceller P, Hans D. Correlations between grey-level variations in 2D projection images (TBS) and 3D microarchitecture: applications in the study of human trabecular bone microarchitecture. *Bone.* 2008 Apr;42(4):775-87. doi: 10.1016/j.bone.2007.11.018. Epub 2008 Jan 29. PMID: 18234577.
  29. Silva BC, Leslie WD. Trabecular Bone Score: A New DXA-Derived Measurement for Fracture Risk Assessment. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2017 Mar;46(1):153-180. doi: 10.1016/j.ecl.2016.09.005. Epub 2016 Nov 24. PMID: 28131130.
  30. Hans D, Goertzen AL, Krieg MA, Leslie WD. Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: the Manitoba study. *J Bone Miner Res.* 2011 Nov;26(11):2762-9. doi: 10.1002/jbmr.499. PMID: 21887701.
  31. Leib E, Winzenrieth R, Aubry-Rozier B, Hans D. Vertebral microarchitecture and fragility fracture in men: a TBS study. *Bone.* 2014 May;62:51-5. doi: 10.1016/j.bone.2013.12.015. Epub 2013 Dec 19. PMID: 24361639.
  32. Silva BC, Broy SB, Boutroy S, Schousboe JT, Shepherd JA, Leslie WD. Fracture Risk Prediction by Non-BMD DXA Measures: the 2015 ISCD Official Positions Part 2: Trabecular Bone Score. *J Clin Densitom.* 2015 Jul-Sep;18(3):309-30. doi: 10.1016/j.jocd.2015.06.008. PMID: 26277849.
  33. Fusaro M, Dalle Carbonare L, Dusso A, Arcidiacono MV, Valenti MT, Aghi A, Pasho S, Gallieni M. Differential Effects of Dabigatran and Warfarin on Bone Volume and Structure in Rats with Normal Renal Function. *PLoS One.* 2015 Aug 4;10(8):e0133847. doi: 10.1371/journal.pone.0133847. PMID: 26241483; PMCID: PMC4524674.
  34. Caraballo PJ, Heit JA, Atkinson EJ, Silverstein MD, O'Fallon WM, Castro MR, Melton LJ. Long-term use of oral anticoagulants and the risk of fracture. *Arch Intern Med.* 1999 Aug 9-23;159(15):1750-6.
  35. Jamal SA, Browner WS, Bauer DC, et al. Warfarin use and risk for osteoporosis in elderly women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Ann Intern Med.* 1998;128:829-32.
  36. Binding C, Bjerring Olesen J, Abrahamsen B, Staerk L, Gislason G, Nissen Bonde A. Osteoporotic Fractures in Patients With Atrial Fibrillation Treated With Conventional Versus Direct Anticoagulants. *J Am Coll Cardiol.* 2019 Oct 29;74(17):2150-2158. doi: 10.1016/j.jacc.2019.08.1025. PMID: 31648707.
  37. Misra D, Zhang Y, Peloquin C, Choi HK, Kiel DP, Neogi T. Incident long-term warfarin use and risk of osteoporotic fractures: propensity-score matched cohort of elders with new onset atrial fibrillation. *Osteoporos Int.* 2014 Jun;25(6):1677-84. doi: 10.1007/s00198-014-2662-0. Epub 2014 Mar 29. PMID: 24833176; PMCID: PMC4180421.
  38. Hans D, Downs RW Jr, Duboeuf F, Greenspan S, Jankowski LG, Kiebzak GM, Petak SM; International Society for Clinical Densitometry. Skeletal sites for osteoporosis diagnosis: the 2005 ISCD Official Positions. *J Clin Densitom.* 2006

- Jan-Mar;9(1):15-21. doi: 10.1016/j.jocd.2006.05.003. Epub 2006 May 12. PMID: 16731427.
39. Calculadora de FRAX. Publishing ABRASSO. <https://abrasso.org.br/calculadora/calculadora>. Accessed 11 December 2019.
  40. R Development Core Team (2019). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
  41. Schwalfenberg GK. Vitamins K1 and K2: The Emerging Group of Vitamins Required for Human Health. *J Nutr Metab.* 2017;2017:6254836. doi: 10.1155/2017/6254836. Epub 2017 Jun 18.
  42. Ye Z, Lu H, Liu P. Association between essential hypertension and bone mineral density : a systematic review and meta-analysis. 2017;8(40):68916–27.
  43. Us A. The effects of diuretics on mineral and bone metabolism. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2018;15(4):291-297. doi: 10.17458/per.vol15.2018.a.DiureticsMineralBoneMetabolism.
  44. Padlina I, Gonzalez-Rodriguez E, Hans D, Metzger D, Stoll D, Aubry-Rozier B, Lamy O. The Lumbar Spine Age-Related Degenerative Disease Influences the BMD Not the TBS: The Osteolus Cohort. *Osteoporos Int.* 2017 Mar;28(3):909-915. doi: 10.1007/s00198-016-3829-7. Epub 2016 Nov 30.
  45. Avila ML, Pullenayegum E, Williams S, Shamma A, Stimec J, Sochett E, Marr K, Brandão LR. Timing of low bone mineral density and predictors of bone mineral density trajectory in children on long-term warfarin: a longitudinal study. *Osteoporos Int.* 2016 Apr;27(4):1547-1557. doi: 10.1007/s00198-015-3411-8. Epub 2015 Nov 16.
  46. Rodrigues AD. Avaliação de vitamina D por estação do ano em adultos de uma cidade no Sul do Brasil Vitamin D evaluation for season of the year in adults of a city in Southern Brazil. 2016;48(4):341–5.
  47. Santos BR, Mascarenhas LP, Satler F, Boguszewski MC, Spritzer PM. Vitamin D deficiency in girls from South Brazil: a cross-sectional study on prevalence and association with vitamin D receptor gene variants. *BMC Pediatr.* 2012;12:62. Published 2012 Jun 8. doi:10.1186/1471-2431-12-62.
  48. Gajic-Veljanoski O, Phua CW, Shah PS, Cheung AM. Effects of Long-Term Low-Molecular-Weight Heparin on Fractures and Bone Density in Non-Pregnant Adults: A Systematic Review With Meta-Analysis. *J Gen Intern Med.* 2016 Aug;31(8):947-57. doi: 10.1007/s11606-016-3603-8. Epub 2016 Feb 19. PMID: 26895998; PMCID: PMC4945546.



## **ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO GRUPO CONTROLE**

Nós, Júlia Vieira Oberger Marques, Carolina Aguiar Moreira, Victoria Zeghbi Cochenski Borba, Gustavo Lenci Marques, pesquisadores da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você a participar de um estudo intitulado “**Avaliação da Densidade Mineral Óssea de Pacientes em Uso de Anticoagulantes Orais**”.

Você foi convidado para participar desta pesquisa como grupo controle para correlacionar seus dados com os dados dos pacientes que usam anticoagulante. O objetivo desta pesquisa é avaliar a massa óssea de pacientes em uso de terapia anticoagulante com varfarina, rivaroxabana e dabigatrana em acompanhamento no ambulatório de Cardiologia e Endocrinologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e comparar as medicações bem como correlacionar os dados com o grupo controle.

Caso você aceite participar da pesquisa, você será direcionado ao ambulatório de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas da UFPR, localizado na rua Agostinho Leão Junior 285 para realização de exame de Densitometria Óssea de coluna vertebral quadril e avaliação de fraturas vertebrais. Esse exame com radiação mínima e semelhante a uma viagem aérea. Após realização da Densitometria Óssea você será orientado sobre os resultados da mesma.

O benefício que você terá com a pesquisa será a realização de densitometria gratuitamente e se houver alteração no seu exame, será encaminhado para realização de acompanhamento médico.

Os pesquisadores Júlia Vieira Oberger, Carolina Aguiar Moreira, Victoria Zeghbi Cochenski Borba e Gustavo Lenci Marques, responsáveis por este estudo poderão ser contatados no Serviço de Endocrinologia e Metabologia da Universidade Federal do Paraná (SEMPR) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná: telefone (41) 2141-1730 ou (41) 2141-1734, de segunda-feira a sexta-feira das 07:30h as 17:00h, para esclarecer eventuais dúvidas que o Sr./ a Sra. possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal\_-

\_\_\_\_\_

Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como um paciente de pesquisa, você pode contatar Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos – CEP/HC/UPFR pelo telefone (41) 3360-1041. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.

A sua participação neste estudo é voluntária e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam o termo de consentimento livre e esclarecido assinado. A sua recusa não implicará na interrupção de seu atendimento e/ou tratamento, que está assegurado.

As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas (orientador, médico). No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a **sua identidade seja preservada e seja mantida a confidencialidade.**

As despesas necessárias para a realização da pesquisa (o exame de densitometria) não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro.

Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, \_\_\_\_\_ li esse termo de consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

---

(Nome e Assinatura do participante da pesquisa ou responsável legal)

Local e data

*(Somente para o responsável do projeto)*

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

---

(Nome e Assinatura do Pesquisador ou quem aplicou o TCLE)

Local e data

## **ANEXO 2- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO GRUPO VARFARINA**

Nós, Júlia Vieira Oberger Marques, Carolina Aguiar Moreira, Victoria Zeghbi Cochenski Borba, Gustavo Lenci Marques, pesquisadores da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você a participar de um estudo intitulado **“Avaliação da Densidade Mineral Óssea de Pacientes em Uso de Anticoagulantes Orais”**.

Você foi convidado para participar desta pesquisa porque faz uso crônico de anticoagulante oral. O objetivo desta pesquisa é avaliar a massa óssea de pacientes em uso de terapia anticoagulante com varfarina, rivaroxabana e dabigatrana em acompanhamento no ambulatório de Cardiologia e Endocrinologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Esta classe de medicação pode interferir na saúde óssea e levar a osteoporose, que é uma doença que os ossos são frágeis e quebram com maior facilidade. A baixa massa óssea ou osteoporose/osteopenia pode vir a acometer os pacientes em uso dessas medicações, e a sua identificação e consequente tratamento buscam reduzir a incidência de fraturas e a morbidade que delas advém.

Caso você participe da pesquisa, serão necessários avaliação e revisão do seu prontuário pelos pesquisadores bem como preenchimento de formulário e coleta de dados como: idade, sexo, peso, altura, presença de outras doenças, outras medicações em uso contínuo atual, uso regular e correto das medicações. Os pesquisadores irão coletar dados do seu prontuário e também resultados de exames de laboratório que você já tenha realizado como: dosagem de cálcio, fósforo, vitamina D 25OH, paratormônio, creatinina e albumina. Em seguida, você será direcionado ao ambulatório de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas da UFPR, localizado na rua Agostinho Leão Junior 285 para realização de exame de Densitometria Óssea de coluna vertebral, quadril além de avaliação de fraturas vertebrais pelo exame. Esse exame apresenta radiação mínima e semelhante a uma viagem aérea. Além de receber, gratuitamente, 2 comprimidos de vitamina D 50.000UI para serem tomados 1x na semana por 2 semanas. Após 4 semanas da realização da Densitometria Óssea você terá outro encontro com os pesquisadores onde será orientado sobre os resultados da densitometria e será submetido a coleta de amostra de sangue para dosagem do exame de osteocalcina.

O benefício esperado com essa pesquisa é identificar pacientes com baixa massa óssea ou osteoporose/osteopenia e estimar a prevalência desta condição na população analisada, assim como correlacionar a incidência desta condição com variáveis clínicas e laboratoriais acima citadas. Caso seja identificada a doença, você será direcionado para acompanhamento no ambulatório de endocrinologia, para tratamento.

Os pesquisadores Júlia Vieira Oberger, Carolina Aguiar Moreira, Victoria Zeghbi Cochenski Borba e Gustavo Lenci Marques, responsáveis por este estudo poderão ser contatados no Serviço de Endocrinologia e Metabologia da Universidade Federal do Paraná (SEMPR) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná: telefone (41) 2141-1730 ou (41) 2141-1734, de segunda-feira a sexta-feira das 07:30h as 17:00h, para esclarecer eventuais dúvidas que o Sr./ a Sra. possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como um paciente de pesquisa, você pode contatar Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos – CEP/HC/UPFR pelo telefone (41) 3360-1041. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.

A sua participação neste estudo é voluntária e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam o termo de consentimento livre e esclarecido assinado. A sua recusa não implicará na interrupção de seu atendimento e/ou tratamento, que está assegurado.

As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas (orientador, médico). No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a **sua identidade seja preservada e seja mantida a confidencialidade.**

As despesas necessárias para a realização da pesquisa (o exame de densitometria, a dosagem de osteocalcina e as cápsulas de vitamina D) não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro.

Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, \_\_\_\_\_  
\_ li esse termo de consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

---

(Nome e Assinatura do participante da pesquisa ou responsável legal)

Local e data

*(Somente para o responsável do projeto)*

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

---

(Nome e Assinatura do Pesquisador ou quem aplicou o TCLE)

Local e data

**ANEXO 3 – QUESTIONÁRIO DE HÁBITOS DE VIDA E FATORES DE RISCO  
PARA OSTEOPOROSE**

**1. Nome:**

Tel contato:

RG HC:

**2. Gênero:** ( ) Masculino ( ) Feminino

**Raça:** ( ) Branca ( ) Negra ou mulato ( ) Asiática

**3. Idade:** \_\_\_\_ anos **Data de nascimento** \_\_/\_\_/\_\_

**4. Comorbidades:**

( ) Doença Reumatológica ( ) Hipertireoidismo ( ) Uso de corticoides

( ) Hipogonadismo ( ) Uso de anticonvulsivantes ( ) DRC Clcr<60 ( ) DM1 ( ) DM2

( ) Doenças disabsortivas ( ) Doenças inflamatórias crônicas ( ) História de Neoplasia

**5. Tabagista:** ( ) Não ( ) Sim, maço/ano: \_\_\_\_\_

**6. Etilismo:** Número de doses ao dia:

**7. Sofreu queda no(s) último(s):** ( ) mês ( ) 3 meses ( ) 1 ano

**8. História prévia de fraturas? Qual local?** \_\_\_\_\_

Atraumática? ( ) Sim ( ) Não

**8. Consumo de produtos lácteos**

\_\_\_\_ cotas / dia

**9. História Familiar de Osteoporose?** ( ) Sim ( ) Não Quem? \_\_\_\_\_

**10. Notou que sua altura diminuiu?**

Altura Informada \_\_\_\_\_ Altura Atual \_\_\_\_\_ Peso \_\_\_\_\_

**11. Já teve diagnóstico de osteoporose?** ( ) Sim ( ) Não

## ANEXO 4 - INTERNATIONAL PHYSICAL ACTIVITY QUESTIONNAIRES, EM PORTUGUÊS

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade : \_\_\_\_ Sexo: F ( ) M ( )

Para responder as questões lembre que:

- atividades físicas VIGOROSAS são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal.
- atividades físicas MODERADAS são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal.

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza por pelo menos 10 minutos contínuos de cada vez.

**1a** Em quantos dias da última semana você CAMINHOU por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

Dias: \_\_\_\_ por SEMANA ( ) Nenhum

**1b** Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia?

horas: \_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_

**2a.** Em quantos dias da última semana, você realizou atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA)

dias \_\_\_\_ por SEMANA ( ) Nenhum

**2b.** Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: \_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_

**3a** Em quantos dias da última semana, você realizou atividades VIGOROSAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar MUITO sua respiração ou batimentos do coração?

dias \_\_\_\_ por SEMANA ( ) Nenhum

**3b** Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: \_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentado durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

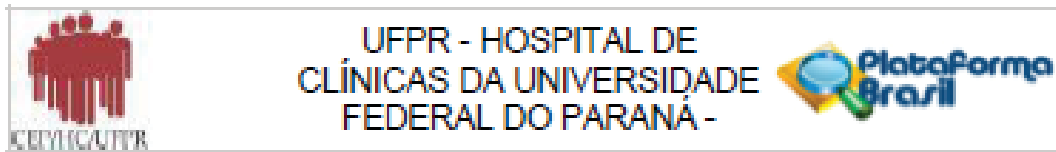
**4a.** Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?

\_\_\_\_ horas \_\_\_\_ minutos

**4b.** Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana?

\_\_\_\_ horas \_\_\_\_ minutos.

## ANEXO 5 – APROVAÇÃO COMITE DE ETICA EM PESQUISA



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação da Densidade Mineral Óssea de Pacientes em uso de Anticoagulantes Orals

**Pesquisador:** CAROLINA AGUIAR MOREIRA

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 84042318.2.0000.0096

**Instituição Proponente:** Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.581.362

#### Apresentação do Projeto:

Estudo de caráter transversal e descritivo. Os pacientes em uso de warfarina ou dabigatrana ou rivaroxabana por mais de 1 ano serão convidados a participar do estudo durante consulta de rotina nos ambulatórios de Endocrinologia e Cardiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, após explicação detalhada da relevância da pesquisa. Os critérios de inclusão serão homens de 25 a 65 anos em uso superior a 1 ano de warfarina ou dabigatrana ou rivaroxabana. Serão excluídos os pacientes com fatores de risco para desenvolvimento de osteoporose: história de uso de corticoide, deficiência de vitamina D (valores menores que 20ng/mL), diabetes tipo 1 e 2, doenças disabsortivas, doenças reumatológicas, doenças inflamatórias crônicas, história de hipertireoidismo, neoplasia, uso de anticonvulsivantes, hipogonadismo e insuficiência renal crônica com clearance de creatinina calculado menor que 60ml/min/1.73m<sup>2</sup>.

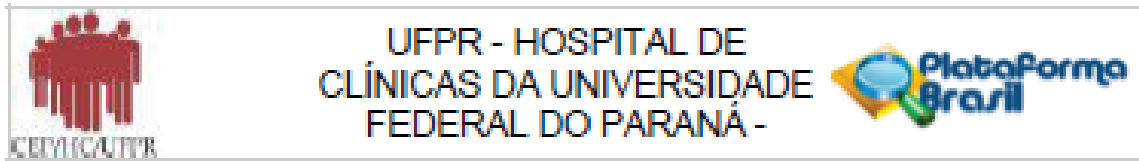
#### Objetivo da Pesquisa:

##### Objetivo Primário:

Comparar a densidade mineral óssea (DMO) e presença de fraturas vertebrais em pacientes em uso de três anticoagulantes, warfarina ou rivaroxabana ou dabigatrana, em acompanhamento nos ambulatórios de Endocrinologia e Cardiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181  
 Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900  
 UF: PR Município: CURITIBA  
 Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br





Continuação do Parecer: 2.581.362

**Objetivo Secundário:**

Avallar a associação com outros fatores clássicos de de risco para osteoporose, tempo e dose nos pacientes em uso de warfarina ou rivaroxabana ou dabigatrana em acompanhamento nos ambulatórios de Endocrinologia e Cardiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e comparar os grupos.

Avallar a qualidade óssea através da técnica de TBS (Trabecular Bone Score) nos pacientes em uso de warfarina ou rivaroxabana ou dabigatrana em acompanhamento nos ambulatórios de Endocrinologia e Cardiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e comparar os grupos.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos e benefícios corretamente apontados pelos pesquisadores, relacionados ao uso de vitamina D e desconfortos pela realização da densitometria óssea, além do acesso a dados de prontuário, com potencial benefício para o paciente participante do estudo.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa de relevância clínica.

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

Os termos de apresentação obrigatória estão adequados.

**Recomendações:**

É obrigatório trazer ao CEP/HC uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que foi aprovado, para assinatura e rubrica, o mesmo deve estar em formatação adequada e com as caixas de rubricas no rodapé das páginas que não contenham assinatura. Após, fazer cópia fiel do TCLE aprovado e rubricado em duas vias: uma ficará com o pesquisador e outra com o participante da pesquisa.

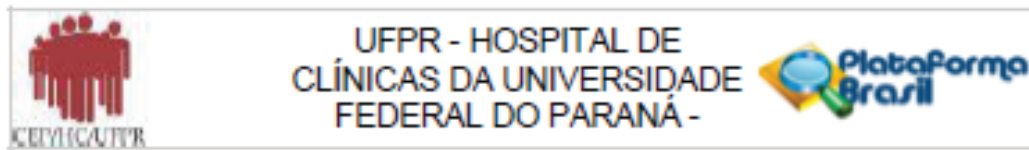
**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

aprovado

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012 e na Norma Operacional Nº 001/2013 do CNS, manifesta -se pela aprovação do projeto, conforme proposto, para início da Pesquisa. Solicitamos que sejam apresentados a este CEP relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos. Os documentos da pesquisa devem ser

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181		
Bairro: Alto da Glória		CEP: 80.060-000
UF: PR	Município: CURITIBA	
Telefone: (41)3360-1041	Fax: (41)3360-1041	E-mail: cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 2.501.302

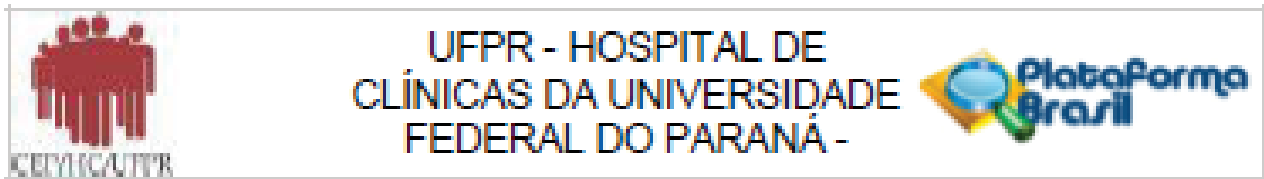
mantidos arquivados.

É dever do CEP acompanhar o desenvolvimento dos projetos por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1021843.pdf	25/02/2018 18:56:08		Acelto
Outros	3_CHECK_LIST_DOCUMENTAL_PROJETO_PESQUISA.pdf	25/02/2018 18:51:43	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	6_DECLARACAO_TORNAR_PUBLICO_RESULTADOS.png	25/02/2018 18:32:12	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	2_DECLARACAO_CONCORDANCIA_ORIENTADOR.jpg	25/02/2018 18:18:02	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	4_DECLARACAO_SERVICO_CARDIOLOGIA.png	25/02/2018 18:16:23	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Declaração de Pesquisadores	1_OFICIO_PESQUISADOR_AO_CEP.png	25/02/2018 18:16:09	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	14_TCLE_controle.pdf	25/02/2018 18:15:28	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	9_TERMO_DE_COMPROMISSO_PESQUISADORES.pdf	21/02/2018 20:42:51	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	12_TERMO_DE_GUARDA_MATERIAL_BIOLÓGICO_.pdf	21/02/2018 20:28:50	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	17_TCR_JULIA.pdf	09/02/2018 19:18:48	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	18_TERMO_DOACAO_ACHE.pdf	09/02/2018 18:51:35	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	18_DECLARACAO_SERVICO_ENDOCRINOLOGIA_DMO.pdf	09/02/2018 18:50:09	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	18_DECLARACAO_OSTEOCALCINA.pdf	09/02/2018 18:49:40	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	18_DECLARACAO_AUSENCIA_CUST	09/02/2018	CAROLINA AGUIAR	Acelto

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181  
 Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900  
 UF: PR Município: CURITIBA  
 Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 2.551.302

Outros	.pdf	18:49:11	MOREIRA	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	14_TCLE.pdf	09/02/2018 18:44:54	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	11_QUALIFICACAO_PESQUISADORE S.pdf	09/02/2018 18:35:34	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	10_TERMO_RESPONSABILIDADE_PESQUISA.pdf	09/02/2018 18:34:41	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	8_TERMO_UTILIZACAO_DE_DADOS.pdf	09/02/2018 18:33:06	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	7_DECLARACAO_USO_MATERIAL_DADOS.pdf	09/02/2018 18:31:57	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Outros	5_TERMO_CONFIDENCIALIDADE.pdf	09/02/2018 18:30:25	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	4_DECLARACAO_SERVICO_ENDOCRINO.pdf	09/02/2018 18:07:51	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	01/02/2018 20:51:42	CAROLINA AGUIAR MOREIRA	Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 05 de Abril de 2018

Assinado por:  
maria cristina sartor  
(Coordenador)

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 151  
Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-000  
UF: PR Município: CURITIBA  
Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br

## ANEXO 6 – ARTIGO NA ÍNTEGRA PUBLICADO NA REVISTA CIENTÍFICA ARCHIVES OF OSTEOPOROSIS

Archives of Osteoporosis (2020) 15:102  
<https://doi.org/10.1007/s11657-020-00770-z>

ORIGINAL ARTICLE



### Trabecular bone score (TBS) and bone mineral density in patients with long-term therapy with warfarin

Júlia Vieira Oberger Marques<sup>1</sup> · Jeferson Zanovelli Nalevalko<sup>2</sup> · Matheus Felipe Oliveira<sup>3</sup> · Arthur William Passos Raetsch<sup>3</sup> · Gustavo Lenci Marques<sup>2</sup> · Ricardo Ras mussen Petterle<sup>4</sup> · Carolina A. Moreira<sup>1</sup> · Victoria Zeghbi Cochenski Borba<sup>1</sup>

Received: 27 March 2020 / Accepted: 8 June 2020  
 © International Osteoporosis Foundation and National Osteoporosis Foundation 2020

#### Abstract

**Summary** In this study, we compared patients using the anticoagulant warfarin for more than a year with a control group with similar characteristics but without using the drug. We demonstrated worse BMD and bone quality by trabecular bone score (TBS) in patients using warfarin for more than 1 year.

**Purpose** Evaluate the bone mineral density (BMD) and the trabecular bone score (TBS) of patients taking warfarin for more than 1 year compared with a control group.

**Methods** Male patients aged 25–65 years in warfarin use for more than 1 year were included. Patients answered a questionnaire regarding lifestyle habits and realized a dual X-ray densitometry (DXA) (lumbar spine and hip), and TBS was evaluated.

**Results** From the 96 patients invited, 33 patients accepted to participate and comprised the warfarin group (WG), and 3 were excluded. The control group (CG) was composed of 21 individuals matched by age and race. The mean age of WG was  $57.0 \pm 7.6$  and in the CG  $54.0 \pm 10.6$  years ( $p = 0.095$ ). The BMD in WG was lower than that in the CG in all sites (spine  $p < 0.001$ , total hip  $p = 0.001$ , and femoral neck  $p = 0.005$ ). A longer time of warfarin use increased the likelihood of having low BMD (OR = 1.239, CI 1.064–1.674,  $p = 0.01$ ), whereas high BMI decreased it (OR = 0.732, CI 0.533–0.918,  $p = 0.03$ ). The TBS was lower in WG than the CG ( $p = 0.04$ ). Lower TBS was associated with hypertension in both groups and to the hip BMD (neck and total) ( $p < 0.005$ ) in the WG. In the multivariate analysis, only hypertension ( $-0.10$ , CI  $-0.17$  to  $-0.03$ ,  $p = 0.008$ ) and total hip BMD ( $0.26$ , CI  $0.07$ – $0.46$ ,  $p = 0.009$ ) influenced TBS.

**Conclusion** We demonstrated an association between worsening of BMD and bone quality in patients taking warfarin for more than 1 year.

**Keywords** Osteoporosis · Warfarin · Metabolic bone diseases · Densitometry · Trabecular bone score

#### Introduction

Warfarin anticoagulant, a vitamin K inhibitor, is used in many situations as prevention and/or treatment of primary or secondary thromboembolic diseases or events [1]. Despite its benefits, the literature indicates that warfarin has negative effects on bone mineral density (BMD) [2]. This occurs because vitamin K is an essential cofactor for the bone matrix formation, and the inhibition of vitamin K by warfarin leads to the formation of a demineralized matrix [3]. Therefore, studies revealed that patients who use this drug for more than 1 year can progress with reduced bone mass and fracture, reported in adults and children [4]. These studies are small, with a heterogeneous group of patients and many confounding factors [4–6]. The reduced bone mass impacts the quality of life and

✉ Júlia Vieira Oberger Marques  
[juliaoberger@gmail.com](mailto:juliaoberger@gmail.com)

<sup>1</sup> Endocrine Division (SEMPR), Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, Av. Agostinho Lefo Junior, 285 - Alto da Glória, Curitiba, PR 80030-110, Brazil

<sup>2</sup> Cardiology Division, Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil

<sup>3</sup> Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

<sup>4</sup> Sector of Health Sciences, Medical School, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil

increases the mortality in these patients. To date, despite little data, warfarin compared with the new non-vitamin K inhibitor anticoagulants showed a higher risk of fracture [7], higher reduction in bone volume, increased trabecular separation, and increased bone turnover, which directly affects bone quality [8]. The trabecular bone score (TBS), a resource of the bone densitometry, can evaluate bone quality indirectly, comparable with the parameters of bone biopsy [9]. It is possible that warfarin could reduce, besides BMD, also the bone quality. However, to date, there are no controlled studies with TBS to evaluate bone quality in patients using warfarin and the studies on BMD have great heterogeneity. For this reason, this study aimed to evaluate BMD and TBS in men taking warfarin for more than 1 year compared with a matched control group and to verify the possible association with other classical risk factors for osteoporosis, clinical features associated to the use of warfarin, compared with a control group.

## Methods

A cross-sectional, controlled study involving male patients treated at the cardiology outpatient clinic of the Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR). The study was approved by the ethics committee on human research at our institution (84042318.2.0000.0096), and all patients signed an informed consent form (ICF).

## Studied population

### Patients

During 6 months, men aged 25–65 who had used warfarin for  $\geq 1$  year were included, comprising the warfarin group (WG). Patients with known secondary causes of osteoporosis, such as a history of corticoid use, type 1 and type 2 diabetes mellitus, chronic inflammatory and rheumatologic diseases, hyperthyroidism, neoplasm, use of anticonvulsants, hypogonadism, and chronic renal failure (estimated glomerular filtration rate  $< 60$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>), as well as any genetic or chronic condition known to affect BMD or a *body mass index* (BMI) of  $< 18.5$  kg/m<sup>2</sup> and  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup>, were excluded.

Patients were invited to perform a dual-emission X-ray bone densitometry (DXA) at the Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (SEMPR). A questionnaire with a structured interview developed by the researchers was used to collect the following data: baseline disease characteristics, comorbidities, use of warfarin (time of use and reason for use), lifestyle (smoking, alcohol consumption, falls in the last year, fractures, dairy product consumption in the diet, family history of osteoporosis, height reduction, and assessment of physical activity by the International Physical Activity

Questionnaires (IPAQ). In accordance with the IPAQ, patients were classified as very active (vigorous physical activity 5 days/week and  $\geq 30$  min per session), active (vigorous physical activity  $\geq 3$  days/week and  $\geq 20$  min per session or walking  $\geq 5$  days/week and  $\geq 30$  min per session or any activity for more than 150 min/week), irregularly active (more than 10 continuous minutes of physical activity during the week), or sedentary (did not perform any physical activity during the week).

### Controls

The control group (CG) consisted of male volunteers aged 18 to 65 who were undergoing treatment at the cardiology clinic of the same hospital for other cardiovascular diseases and who had never used any anticoagulants. The same exclusion criteria were applied to the CG and the WG. After signing the ICF, CG members performed the same evaluations as WG members except for the laboratory tests.

### Biochemical analysis

Laboratory results of the WG were collected from medical records closest to the evaluation or from a blood sample collected at the time of DXA evaluation: calcium (arsenazo III method, normal value [VN] = 8.6–10.3 mg/dL); parathyroid hormone (chemiluminescence VN = 15–68 pg/mL); 25 hydroxy vitamin D (25OHD) chemiluminescent immunoassay interpreted according to the Endocrine Society guideline deficiency ( $< 20$  ng/mL), insufficiency ( $\geq 20$ –29 ng/mL) and sufficiency ( $\geq 30$  ng/mL); creatinine (alkaline picrate kinetic method, Jaffe reaction, VN = 0.7–1.2 mg/dL); phosphorus (phosphomolybdate ultraviolet method, VN = 2.3–4.7 mg/dL); albumin (green bromocresol colorimetric method, VN = 3.5–5.0 mg/dL); and glomerular filtration rate estimated using the CKD-EPI formula.

### Bone densitometry scan and trabecular bone score

A BMD exam was performed using DXA in a HOLOGIC Horizon A machine (serial number 201383, Bedford, USA), to analyze the lumbar spine (L1–L4), femoral neck, and total femur. The BMD results were expressed as g/cm<sup>2</sup> and evaluated according to the recommendation of the International Society for Clinical Densitometry (ISCD). The patients BMD was classified as normal (BMD normal or appropriate for age) or low (osteopenia, osteoporosis, or BMD below that expected for the age range).

TBS was obtained from all DXA lumbar scans (L1–L4 not excluded in the BMD measurement) using the TBS insight software version 3.0.2.0 (MediMaps, Geneva, Switzerland), as well as versions 2.2 and 3.0. It was stratified according to the studies conducted in the male population in Latin

America. In addition, following the DXA manufacturer, the microarchitecture was considered degraded when values were  $\leq 1.230$ , partially degraded when values were  $> 1.23$  and  $< 1.31$ , and normal when they were  $\geq 1.31$  [10].

### FRAX analysis

The 10-year probability of fractures was estimated using the FRAX@Brazil tool [11] with and without TBS correction in both groups. For the WG, FRAX was evaluated considering the use of warfarin as a secondary cause of osteoporosis [12].

### Statistical analysis

All data analyses were performed using the statistical software R (R Core Team, 2019) version 3.6.1. Sample normality was verified using the Shapiro–Wilk test. Quantitative variables were expressed in a average  $\pm$  standard deviation, whereas qualitative variables were expressed in absolute and relative frequency. To test the differences between the CG and the WG, Mann–Whitney non-parametric tests and Fisher’s exact test were used for numerical and categorical variables, respectively. A multivariate analysis was performed using logistic regression. Odds ratios and 95% confidence intervals were calculated. The level of significance adopted in the study was 5%, which indicates a significant difference when  $p \leq 0.05$ .

### Results

Among all patients at the cardiology clinic who used anticoagulants, 93 were selected to participate in the study. Of these, 36 were accepted, but 3 were excluded due to less than 1 year of warfarin use. The mean age of the 33 patients included in the WG was  $57.0 \pm 7.6$  years, and 21 patients were included in the CG, with mean age of  $54.0 \pm 10.6$  years. The mean BMI of the WG was  $27.00 \pm 4.45$  kg/m<sup>2</sup>. Most of them were overweight or obese, did not smoke, had low calcium intake, were sedentary or irregularly active, and had hypertension. There were no differences in all these variables compared with the CG, including a family history of osteoporosis or past fractures. However, 6 patients (18%) from the WG reported a loss of more than 5 cm in height. The median time of warfarin use was 7.47 (1–40) years, and the most frequent indications for the use of warfarin were atrial fibrillation in 13 (39%) patients and cardiac valve replacement in 12 (36%) patients (Table 1).

The mean values of the laboratory tests in the WG were calcium  $9.20 \pm 0.48$  mg/dL, albumin  $4.00 \pm 0.33$  mg/dL, phosphorus  $3.00 \pm 0.54$  mg/dL, estimated glomerular filtration rate  $80.0 \pm 13.4$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, prothrombin time (INR)  $2.91 \pm 1.07$ , parathyroid hormone  $67 \pm 32.2$  pg/mL, and vitamin D  $24.9$  (14–59.9) ng/mL (60% with insufficiency, 20% with sufficiency and 20% with deficiency).

Hyperparathyroidism secondary to vitamin D deficiency was present in 11 patients (40%), and no patients had primary hyperparathyroidism. The laboratory parameters were not associated with BMD or TBS in the WG.

### Bone mineral density

BMD was lower in the WG compared with the CG in all sites analyzed ( $p < 0.05$ ) (Fig. 1). In the WG, 15 (45%) patients had normal BMD, 18 (54%) had low BMD, 11 (30%) had osteopenia, 6 (18%) had osteoporosis, and 2 (6%) had low bone mass for their age. Low BMD was associated with longer warfarin use ( $p = 0.01$ ) even when the 2 outliers were excluded ( $p = 0.04$ ), as well as lower BMI ( $p = 0.03$ ) and lower creatinine ( $p = 0.001$ ). There was also a tendency toward higher PTH ( $p = 0.05$ ) and low TSH ( $p = 0.06$ ) (Fig. 2).

The multivariate analysis considered low BMD as the dependent variable and all variables with a significant difference in the univariate analysis (creatinine, PTH, TSH, BMI, and time of warfarin use) as independent variables. After logistic regression analysis, long-term warfarin use increased the likelihood of having low BMD (osteoporosis, osteopenia, and low bone mass) (OR = 1.239; 97.5% CI, 1.064–1.674;  $p = 0.01$ ), whereas having a high BMI decreased it (OR = 0.732; 97.5% CI, 0.533–0.918;  $p = 0.03$ ).

### Trabecular bone score

The mean TBS value was much lower in the WG ( $1.284 \pm 0.109$ ) than in the CG ( $1.354 \pm 0.115$ ),  $p = 0.04$  (Fig. 3). *This study was limited by the low number of patients and lack of laboratory and fracture evaluation in the CG* (Fig. 4).

In the univariate analysis, patients with hypertension had lower TBS in the WG ( $p = 0.040$ ), as well as in the CG ( $p = 0.010$ ), where TBS was associated with age ( $p = 0.02$ ). In the WG, TBS was correlated with BMD in total hip (g/cm<sup>2</sup>) ( $p = 0.0439$ ,  $R = 0.3529$ ), total hip T-score ( $p = 0.044$ ,  $R = 0.3819$ ), femoral neck (g/cm<sup>2</sup>) ( $p = 0.0419$ ,  $R = 0.3560$ ), and femoral neck T-score ( $p = 0.037$ ,  $R = 0.3951$ ). In the WG, family history of osteoporosis showed a tendency to be associated to lower TBS ( $p = 0.053$ ).

The multivariate analysis considering TBS as the dependent variable and age, hypertension, time of warfarin use, BMI, family history of osteoporosis, past fractures, and BMD (spine and hip) as independent variables showed that only the presence of hypertension ( $-0.10$ , CI  $-0.17$  to  $-0.03$ ,  $p = 0.008$ ) and the total hip BMD ( $0.26$ , CI  $0.07$ – $0.46$ ,  $p = 0.009$ ) keep the significance.

### FRAX

Although the calculated FRAX Brazil score was low in both groups, the WG had a higher calculated risk compared with CG. The median risk for major fracture was 6.4% (1.0–7.2%) and 1.7% (1.6–3.6%) ( $p = 0.061$ ), and for hip fracture the

**Table 1** Clinical characteristics of patients and controls

	Warfarin group (n=33)	Control group (n=21)	p value
Age (years)	57.0±7.6	54.0±10.6	p=0.095
Race			p=1.000
Caucasian	96% (32)	100% (21)	
Black	4% (1)		
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.00±4.45	27.00±4.47	p=0.569
Current smokers	9% (3)	19% (4)	p=0.411
Physical activity			p=0.769
Sedentary	39% (13)	47% (10)	
Very active	30% (10)	28% (6)	
Active	6% (2)	9% (2)	
Irregularly active	24% (8)	14% (3)	
Calcium intake (mg/day)	300±2.64	300±401	p=0.4721
Hypertension	69% (23)	47% (10)	p=0.319
Family history of osteoporosis	15% (5)	28% (6)	p=0.397
Past traumatic fractures	9% (3)	4% (1)	p=1.00

\*BMI = body mass index

median risk was 0.2% (0–4.2%) and 1.7% (1.3–4.9%) ( $p=0.011$ ) for WG and CG, respectively. When FRAX was corrected by TBS, it was also higher in the WG compared with the CG for major ( $p=0.011$ ) and hip fractures ( $p<0.000$ ); however, TBS did not change the calculated risk of the WG.

## Discussion and conclusion

This study showed that the patients who used warfarin had lower BMD and more degraded TBS in comparison with the control group. The only published studies that have evaluated BMD were small, heterogeneous, and affected by several confounding factors [2, 4, 5, 7]. To date, no study that evaluated

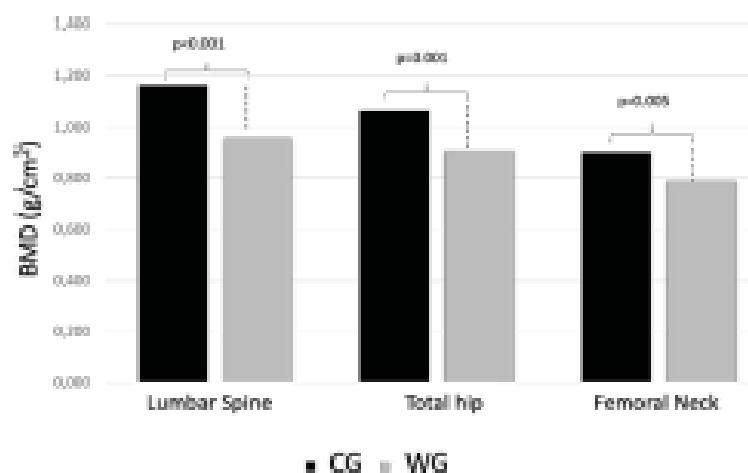
osteoporosis risk factors and assessed TBS has been published.

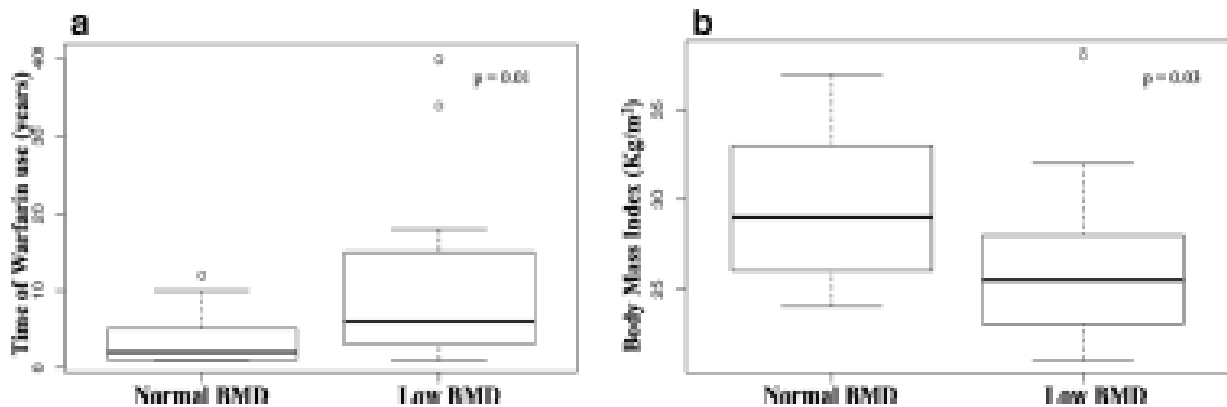
In a homogeneous cohort, our results showed a reduction in BMD in all sites in patients using warfarin, which is compatible with the literature [2, 6, 8]. However, this association is not definitive. A meta-analysis of cross-sectional studies showed a negative association of anticoagulant use with ultra-distal radius BMD, but not with spine or hip BMD [13]. Indeed, in another cohort of elderly men, researchers found no such association [14].

We found the lowest bone quality evaluated by TBS in 72% of the WG sample (degraded and partially degraded TBS) when compared with the CG. To date, TBS value in the WG is not mentioned in the literature.

The association of lower BMD with time of warfarin use remains inconclusive, although demonstrated previously in

**Fig. 1** Bone mineral density in the warfarin and control groups. BMD bone mineral density; CG control group; WG warfarin group





**Fig. 2** Time of warfarin use (a) and body mass index (b) according to bone mineral density. *BMD* bone mineral density

patients with long-term warfarin use for mechanical valve replacement [2]. A cohort of men taking warfarin for 4 months or more showed no association between BMD and time of warfarin use [8]. Longer warfarin use may compromise osteocalcin formation to a greater degree and therefore worsen bone mineralization [15, 16].

Despite data in the literature showed an association between warfarin and BMD, no human studies have evaluated bone quality using TBS. Fusaro et al. [5] described an increased trabecular separation and a reduced bone volume in a bone biopsy study of warfarin-treated rats, which corroborates our TBS data.

The multivariate analysis confirmed the correlation of hip BMD with worse TBS, as demonstrated before [17], and with hypertension. Hypertension, indeed, was associated with TBS, but not with low BMD. To date, no studies have correlated bone quality using TBS and hypertension. However, a recent meta-analysis demonstrated that hypertension was associated with low BMD [18], although the relationship among warfarin use, hypertension, and bone mass is not described in

the literature. The mechanism that leads to bone mass alteration with warfarin use has not yet been elucidated, but this may result from an interaction between other medications in use, such as loop diuretics and calcium channel antagonists [19].

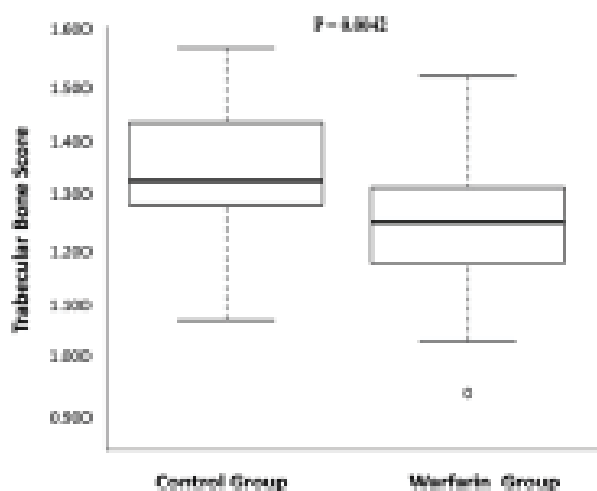
In our study, there was no correlation between a BMD of the lumbar spine and TBS, which could be explained by the degenerative lumbar spine disease as already described [20].

In this cohort, lower BMI was associated with lower BMD, described before in children in long-term use of warfarin [21]. Indeed, in women also in long-term use of warfarin, high BMI was protective for vertebral and all osteoporotic fractures combined [14].

Although we excluded diseases associated with bone loss, 40% of WG had secondary hyperparathyroidism detected by the laboratory evaluation, probably due to hypovitaminosis D, which was present in 80% of the sample. This could be a confounding factor, but the statistical analysis showed no association of vitamin D levels or secondary hyperparathyroidism with BMD or TBS. The prevalence studies of vitamin D deficiency and insufficiency in southern Brazil showed normal values in around 20–50% of the population, depending on the time of year, similar to which was seen in our study [22, 23].

The FRAX tool corrected or not by TBS seemed, in this specific population, to be a good calculator to estimate future fractures, as it was different between groups, but it needs future confirmation due to lack of data evaluating FRAX in patients using warfarin. A meta-analysis comparing short-term use of unfractionated heparin, oral vitamin K antagonists or placebo, did not show the difference between them in the short term [24].

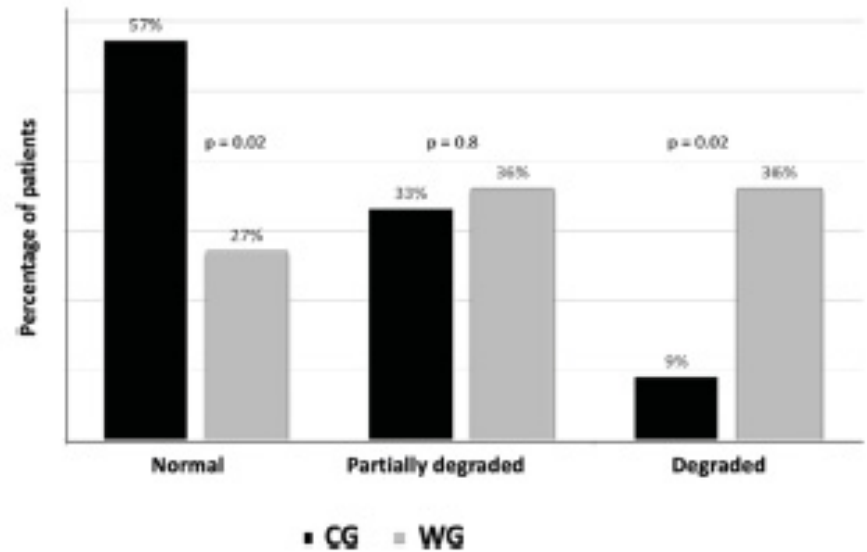
This study was limited by the low number of patients and lack of laboratory and fracture evaluation in the CG. However, it has great strengths and it differs from other previously published studies. The groups were homogeneous regarding sex and age, which avoided the interference of menopause. The



**Fig. 3** Trabecular bone score in warfarin and control groups



**Fig. 4** Trabecular bone score stratification in the warfarin and control groups. CG control group; WG warfarin group



study also excluded patients with diseases known to interfere with bone mass and showed, for the first time, a TBS evaluation with warfarin, which requires further confirmation.

We concluded that warfarin use for more than 1 year affects bone density and quality as evaluated using BMD and TBS. This transversal study opens a new route to better understanding the effects of anticoagulants on bone tissue.

### Compliance with ethical standards

The study was approved by the ethics committee on human research at our institution (84042318.2.0000.0096), and all patients signed an informed consent form (ICF).

**Conflict of interest** None.

### References

- Tufano A, et al (2015) Oral anticoagulant drugs and the risk of osteoporosis: new anticoagulants better than old? *Seminars in thrombosis and hemostasis*. Vol. 41. No. 04. Thieme Medical Publishers
- Remieryzdi Z et al (2009) Reduced bone density in patients on long-term warfarin. *Int J Rheum Dis* 12(2):130–135
- Sato Y, Honda Y, Kanoh H, Oizumi K (1997) Long-term oral anticoagulation reduces bone mass in patients with previous hemispheric infarction and nonrheumatic atrial fibrillation. *Stroke* 28(12):2390–2394
- Namba S, Yamaoka-Tojo M, Hashikata T, Ikeda Y, Kitsuto I, Hashimoto T, Shimohama T, Tojo T, Takahira N, Masada T, Aki J (2015) Long-term warfarin therapy and biomarkers for osteoporosis and atherosclerosis. *BBA Clin* 4:76–80. <https://doi.org/10.1016/j.bbacli.2015.08.002> eCollection 2015 Dec
- Fusato M et al (2015) Differential effects of dabigatran and warfarin on bone volume and structure in rats with normal renal function. *PLoS One* 10(8):e0133847
- Barnes C, Newall F, Ignjatovic V, Wong P, Cameron F, Jones G, Monagle P (200) Reduced bone density in children on long-term warfarin. *Pediatr Res* 57(4):578–581
- Gu ZC, Zhou LY, Shen L, Zhang C, Pu J, Lin HW, Liu XY (2018) Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants vs warfarin at risk of fractures: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Front Pharmacol* 9:348. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00348> eCollection 2018
- Philip WJ, Martin JC, Richardson JM, Reid DM, Webster J, Douglas AS (1995) Decreased axial and peripheral bone density in patients taking long-term warfarin. *QJM* 88(9):635–640
- Fusato M, Mereu MC, Aghi A, Iervasi G, Gallieni M (2017) Vitamin K and bone. *Clin Cases Miner Bone Metab* 14(2):200–206. <https://doi.org/10.11138/cmbm.2017.14.1.200>
- McCloskey EV, Odén A, Harvey NC, Leslie WD, Hans D, Johansson H, Barkmann R, Bouillon S, Brown J, Chapurlat R, Pijl A, Fujita Y, Guler CC, Goltzman D, Iki M, Karlsson M, Kindmark A, Kotowicz M, Kurumatani N, Kwok T, Lamy O, Leung J, Lippuner K, Ljunggren Ö, Lomzon M, Mellström D, Merlijn T, Oei L, Ohlsson C, Pasco JA, Rivadeneira F, Rosengren B, Somay-Rendu E, Szulc P, Tamaki J, Kanis JA (2016) A meta-analysis of trabecular bone score in fracture risk prediction and its relationship to FRAX. *J Bone Miner Res* 31(5):940
- Zerbini CAF, Szejnfeld VL, Abergaria BH, McCloskey EV, Johansson H, Kanis JA (2015) Incidence of hip fracture in Brazil and the development of a FRAX model. *Arch Osteoporos* 10(1):1–7
- Zerbini CAF, Szejnfeld VL, Abergaria BH, McCloskey EV, Johansson H, Kanis JA (2015) Calculadora de FRAX. Publishing ABRASSO. <https://abrasso.org.br/calculadora/calculadora>. Accessed 11 December 2019
- Caraballo PJ, Heit JA, Adkinson EJ, Silverstein MD, O'Fallon WM, Castro MR, Melton LJ (1999) Long-term use of oral anticoagulants and the risk of fracture. *Arch Intern Med* 159(15):1750–1756
- Woo C, Chang LL, Ewing SK, Bauer DC (2008) Single-point assessment of warfarin use and risk of osteoporosis in elderly men. *J Am Geriatr Soc* 56(7):1171–1176. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2008.01786.x>
- Schwalfenberg GK (2017) Vitamins K1 and K2: The emerging group of vitamins required for human health. *J Nutr Metab* 2017: 6254836. <https://doi.org/10.1155/2017/6254836>
- Menon RK, Gill DS, Thomas M, Kemoff PB, Dandona P (1987) Impaired carboxylation of osteocalcin in warfarin-treated patients. *J Clin Endocrinol Metab* 64(1):59–61
- Bonaccorsi G, Caffarelli FP, Cervellati C et al (2019) A new corrective model to evaluate TBS in obese post-menopausal women: a cross-sectional study [published online ahead of print, 2019

- Aug 30]. *Aging Clin Exp Res*. <https://doi.org/10.1007/s40520-019-01317-0>
18. Ye Z, Lu H, Liu P (2017) Association between essential hypertension and bone mineral density: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 40(8):68916–68927. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20325> eCollection 2017 Sep 15
  19. Li A (2018) The effects of diabetes on mineral and bone metabolism. *Pediatr Endocrinol Rev* 15(4):291–297. <https://doi.org/10.17458/peer.vol15.2018.aDiabetesEffectonMineralMetabolism>
  20. Padilla I, Gonzalez-Rodriguez E, Hain D, Metzger D, Stoll D, Aubry-Rozier B, Lamy O (2017) The lumbar spine age-related degenerative disease influences the BMD not the TBS: the Osteoporosis cohort. *Osteoporos Int* 28(3):909–915. <https://doi.org/10.1007/s00198-016-3829-7>
  21. Avila ML, Pullanayagam E, Williams S, Shamma A, Simco J, Sachdev R, Mann K, Brandão LR (2016) Timing of low bone mineral density and predictors of bone mineral density trajectory in children on long-term warfarin: a longitudinal study. *Osteoporos Int* 27(4):1547–1557. <https://doi.org/10.1007/s00198-015-3411-8>
  22. Orbhi B, Rencada C, Rodrigues AD (2016) Avaliação de vitamina D por osteoção de urso em adultos de uma cidade do Sul do Brasil. *Rev Bras Aral Clin* 48(4):341–345. <https://doi.org/10.21877/2448-3877.201600482>
  23. Santos BR, Mascarenhas LP, Saito F, Bogaczewski MC, Spritzer PM (2012) Vitamin D deficiency in girls from South Brazil: a cross-sectional study on prevalence and association with vitamin D receptor gene variants. *BMC Pediatr* 12:62. Published 2012 Jun 8. <https://doi.org/10.1186/1471-2431-12-62>
  24. Gajic-Voljarski O, Phua CW, Shah PS, Cheung AM (2016) Effects of long-term low-molecular-weight heparin on fractures and bone density in non-pregnant adults: a systematic review with meta-analysis. *J Clin Intern Med* 31(8):947–957. <https://doi.org/10.1007/s11606-016-3603-8>

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**ANEXO 7 – TABELAS DE DADOS DOS PACIENTES INCLUIDOS NO GRUPO  
VARFARINA**

Código paciente	Idade	Raça	HAS	Motivc	Temp	Tabagismo	Atividade	FRAX	Emaior	quadri	FRAX+TB maior	quadri	Fraturas atr	Cotas	Cálci
V1	55	0	1	0	18	0	3	0,072	0,042	0,28	0,11	0	300		
V2	51	0	0	0	10	0	1	0,037	0,002	0,007	0,001	0	900		
V3	63	0	1	1	2	0	2	0,016	0,002	0,016	0,002	0	900		
V4	55	0	1	3	10	1	0	0,021	0,002	0,039	0,004	0	0		
V5	35	0	1	0	1,8	0	3	0,036	0,001	0,06	0,002	0	600		
V6	61	0	1	1	10	0	1	0,013	0	0,026	0,001	0	300		
V7	52	0	0	2	1	1	0	0,02	0,001	0,023	0,002	0	300		
V8	60	0	1	1	3	0	1	0,016	0,001	0,016	0,002	0	300		
V9	55	0	0	0	40	0	1	0,036	0,001	0,018	0,001	0	0		
V10	60	0	1	0	9	0	0	0,016	0,001	0,051	0,003	0	300		
V11	40	0	0	3	3	0	0	0,037	0,015	0,042	0,017	0	300		
V12	36	0	0	3	3	0	0	0,026	0,002	0,022	0,003	0	300		
V13	52	0	1	1	2	0	3	0,027	0	0,027	0,001	1	900		
V14	61	0	0	1	2	0	0	0,023	0,005	0,027	0,005	0	600		
V15	65	0	1	1	5	0	0	0,014	0,001	0,008	0,001	0	0		
V16	57	0	1	0	14	1	3	0,026	0,006	0,041	0,009	0	0		
V17	58	0	1	0	18	0	0	0,034	0,011	0,03	0,011	0	600		
V18	61	0	1	0	6	0	1	0,021	0,004	0,022	0,004	0	300		
V19	58	0	1	1	1	0	0	0,046	0	0,04	0	1	300		
V20	46	0	1	0	1	0	0	0,021	0,002	0,038	0,003	0	300		
V21	58	0	1	0	34	0	1	0,017	0,001	0,045	0,003	0	300		
V22	54	0	1	0	15	0	3	0,022	0,003	0,02	0,003	0	0		
V23	62	0	1	1	6	0	1	0,043	0,019	0,073	0,026	0	300		
V24	56	0	1	2	2	0	0	0,016	0	0,011	0	0	0		
V25	63	0	1	2	3	0	0	0,049	0,025	0,047	0,026	0	600		
V26	45	0	0	1	12	0	2	0,023	0,003	0,013	0,002	0	0		
V27	52	0	0	1	1,16	0	1	0,017	0,001	0,008	0,001	0	0		
V28	57	0	0	3	1,5	0	3	0,026	0,005	0,013	0,003	0	600		
V29	61	0	1	3	5	0	3	0,015	0,001	0,009	0,001	0	300		
V30	63	1	1	1	1	0	0	0,016	0,002	0,019	0,002	0	300		
V31	51	0	1	0	1	0	1	0,016	0	0,008	0	0	300		
V32	59	0	1	1	2	0	3	0,032	0,019	0,09	0,018	0	300		
V33	63	0	0	1	3	0	1	0,01	0	0,012	0	1	300		

Class	IMC	IMC	Perda de alt.	Hx	Familia	Cálcio	Albur	A1C	TSH	Fósforo	PTH	Clas	PTH	Vitamina	Class	VI	Creatinina	CICr	TAP	(RN/DMO	longa	
0	23	0	0	0	0	0,05	5,26														2,89	2
0	22	0	0	1	10,1					4,3	44,2	0		27,1	1	1	1	86			2,34	1
1	27	1	0	0	9,2	0,05	1,29			2,7	122	1		22,4	1	1,2	64			2,56	0	
2	30	0	0	0	8,6	0,05	1,55			3	60,8	0		24,9	1	0,8	100			3,16	1	
1	29	0	0	1												1	97			3,4	0	
2	35	0	0	0	9,5	0,06	2,74			3,3	84	1		20,1	1	1,1	72			2,91	0	
1	27	0	0	0	9,2	0,05	0,27			2,4	59	0		24,3	1	1,3	62			6,24	0	
0	22	0	0	0																1,93	1	
1	28	0	0	1	9,4		2,81			2,8	82	1		21,3	1	0,9	95			1,92	1	
2	37	0	0	0	9,1					3,1	68	0		17,1	2	1,4	54			3,57	0	
1	25	0	0	0	9,1					3	50	0		14,2	2	1,6	53			2,67	3	
0	24	0	0	0	9,3					2,3	46	0		19,3	2	1	96			3,45	3	
2	34	0	0	0	8,9	4	1,52			3,7	197	1		24,9	1	1,1	76			2,67	0	
1	28	0	0	0			0,07									1	80			3,16	2	
2	30	0	0	1	8,9	0,05	0,8			3,7	96	1		26,1	1	1	78			3,12	0	
0	21	0	0	0	9,5	4,5	1,32				74	1				1	83			2,08	2	
1	26	0	0	0	10,1	0,05	1,62			2,8	39	0		29	1	0,7	104			2,51	1	
1	28	0	0	0			0,06	5,77								1,1	72			4,42	1	
2	34	0	0	1	9,1		0,05			2,9	60,8	0		35	0	1,2	66				0	
1	25	0	0	0	9,9					3,1	82	1		32,3	0	1,1	80				0	
2	38	1	0	0	9,1	0,05	2,85			3,2	78	1		26,7	1	0,9	98			5,77	1	
1	26	0	0	0	10,1					2	55	0		43,2	0	1,1	75			2,46	1	
1	28	0	0	0	9,1	3,9	0,05	1,84		2,3	94	1				0,8	95			2,91	2	
0	24	0	0	0																1,74	0	
0	22	0	0	0	9,9					4	70	0		28,4	1	1,1	71				2	
1	26	0	0	0	9,9		0,98			3,2	79	1		23	1	1,1	80			4,23	0	
0	24	0	0	0	8,7	0,05	2,66			3	47,5	0		21,8	1	1,1	76			4,18	0	
1	25	1	0	0	8,2	0,05				3,6	61	0		30,6	0	0,9	94			4,23	2	
2	32	0	0	0	9,5	4,2				2,9	80,6	1		14	2	1	80			3,36	0	
0	24	1	0	0	8,8		2,42			3,3	67	0		25,3	1	0,9	90			1,76	1	
1	26	1	0	0	9,2					2,4	56	0		22,5	1	0,9	98			2,59	0	
2	32	0	0	0	9,5	3,6	3,29			2,8	23	0		17,5	2	1	82			3,5	1	
2	30	0	0	0	9,3					3,6	64	0		59,9	0	1	79			2,39	0	

DMO	Coluna	T	Z	Fémur t1 T	Z	Colo de fém T	Z	TBS	Class1,
1	0,585	-4,6		0,528	-3,3	0,457	-3,5	0,993	2
1	0,957	-1,5		1,054	0,1	0,785	-1,1	1,532	0
0	1,15	0,5		1,071	0,3	0,843	-0,6	1,295	1
1	1,065	-0,2		0,964	-0,5	0,745	-1,4	1,214	2
0	0,984		-1	0,923		0,804	-0,6	1,218	2
0	1,13	0,2		1,208	1,2	0,974	0,3	1,211	2
0	1,053	-0,3		1,031	0	0,789	-1	1,287	1
1	0,88	-1,9		0,931	-0,7	0,838	-0,7	1,335	0
1	0,952	-1,3		1,112	0,5	0,828	-0,7	1,376	0
0	1,092	0		1,1	0,4	0,835	-0,7	1,082	2
1	0,66		-3,8	0,646		0,593	-2	1,242	1
1	0,832		-2,3	0,858		0,767	-0,8	1,292	1
0	1,262	1,6		1,137	0,7	0,972	0,3	1,27	1
1	0,737	-3,2		0,769	-1,7	0,718	-1,6	1,252	1
0	1,297	1,9		1,129	0,6	0,912	-0,1	1,405	0
1	0,712	-3,4		0,719	-2,1	0,657	-2	1,202	2
1	0,875	-2		0,732	-2	0,606	-2,4	1,291	1
1	0,811	-2,2		0,873	-1,1	0,74	-1,4	1,284	1
0	1,346	2,3		0,988	0,4	1,18	1	1,295	1
0	0,874		-1,7	0,897		0,76	-0,6	1,189	2
1	0,96	-1,2		0,903	-0,9	0,798	-1	1,119	2
1	0,955	-1,5		0,874	-1,1	0,737	-1,4	1,295	1
1	0,981	-0,8		0,818	-1,4	0,553	-2,8	1,164	2
0	0,982	-0,6		1,071	0,3	0,932	0	1,342	0
1	0,763	-3		0,664	-2,4	0,522	-3	1,271	1
0	0,669		-0,9	0,854		0,728	-0,9	1,356	0
0	1,018	-0,7		0,907	-0,8	0,859	-0,5	1,398	0
1	0,746	-3,1		0,894	-0,9	0,694	-1,7	1,397	0
0	1,095	0,2		1,152	0,8	0,91	-0,1	1,384	0
1	0,917	-1,6		0,853	-1,2	0,853	-1,8	1,261	1
0	1,131	0,4		1,126	0,6	0,952	0,2	1,379	0
1	0,878	-1,7		0,829	-1,3	0,619	-2,3	1,083	2
0	1,025	2,4		1,204	1,1	1,251	2,4	1,266	1

## ANEXO 8 – TABELAS DE DADOS DOS PACIENTES INCLUÍDOS NO GRUPO CONTROLE

Paciente	Idade	Raça	IMC	Class IMC	idade fisi	HAS	FRA	maior	quadril	ax + TE	maior	quadril	Fraturas
C1	52	0	31	2	0	1		1,60%	0,10%		0,50%	0,00%	0
C2	61	0	30	2	3	1		1,60%	0,10%		1,80%	0,20%	0
C3	56	0	27	1	0	1		1,80%	0,10%		1,50%	0,10%	0
C4	45	0	21	0	0	0		1,50%	0,00%		0,50%	0%	0
C5	60	0	22	0	0	0		1,70%	0,20%		1,80%	0,20%	0
C6	53	0	23,5	0	1	0		3,60%	0,10%		1,20%	0,10%	0
C7	45	0	23	0	1	0		3,60%	0,10%		1,30%	0,10%	0
C8	49	0	26	1	1	0		1,70%	0%		0,50%	0%	0
C9	45	0	39	2	2	1		1,60%	0%		0,20%	0%	0
C10	53	0	27	1	0	1		1,70%	0,10%		0,90%	0%	0
C11	29	0	25	0	3	0		1,50%	0%		0,30%	0%	0
C12	56	0	24	0	0	0		3,40%	0,10%		2%	0,10%	0
C13	64	0	27	1	0	1		2%	0,40%		2,40%	0,50%	0
C14	54	0	31	2	0	1		3,50%	0,30%		8,70%	0,70%	1
C15	58	0	27	1	3	1		1,60%	0,10%		1,30%	0,10%	0
C16	62	0	32	2	0	1		1,30%	0,10%		0,80%	0,10%	0
C17	58	0	28	1	0	1		1,50%	0%		0,80%	0%	0
C18	56	0	23	0	1	1		2%	0,20%		1,60%	0,20%	0
C19	30	0	22	0	1	0		1,40%	0%		0,40%	0%	0
C20	54	0	28	1	1	0		3,40%	0,10%		0,50%	0,10%	0
C21	28	0	20	0	2	0		1,40%	0,00%		1,10%	0%	0

Ingesta de Cálcio	Tabagismo	História Familiar	DMO longa	DMO curta	Coluna	T	Z	Fêmur tot; T	Z	Colo de fé T
0	0	0	0	0	1,173	0,7		1,237	1,3	0,889
300	0	0	0	0	1,063	0,1		1,04	0	0,857
0	0	1	0	0	1,027	-0,6		1,055	0,1	0,812
900	1	0	0	0	0,969		-0,4	0,968	0,4	0,909
0	0	1	1	1	0,919	-1,2		1,019	-0,1	0,815
900	0	1	0	0	1,202	1		1,014	-0,1	0,858
600	0	1	0	0	1,019		-0,4	0,911	-0,6	0,835
1200	0	0	0	0	1,453		3,6	1,13	0,9	0,942
0	0	0	0	0	1,188	1,1		1,107	0,7	0,958
300	0	0	0	0	1,005	-0,8		1,059	0,2	0,885
300	0	0	0	0	1,199		1	1,212	1,2	1,195
300	0	1	0	0	1,216	1,1		1,042	0,1	0,906
300	0	0	1	1	1,058	-0,3		1,042	0,1	0,744
0	1	0	0	0	0,981		-1	0,925	-0,7	0,768
1200	1	0	0	0	1,061	-0,3		1,179	1	0,932
300	0	0	0	0	1,365	2,5		1,1	0,4	0,97
300	0	0	0	0	1,333	2,2		1,082	0,3	0,978
0	1	0	1	1	1,222	1,2		1,059	0,2	0,748
0	0	0	0	0	1,162		0,6	1,274	1,7	1,123
0	0	1	0	0	1,405	2,9		1,157	1,2	0,896
0	0	0	0	0	0,981		-1	0,925	-1,1	0,925

Z	TBS	Classificação tbs
	1,453	0
	1,272	1
	1,313	1
0,9	1,459	0
	1,28	1
	1,433	0
-0,1	1,407	0
0,8	1,453	0
	1,159	1
	1,389	0
2,1	1,54	0
	1,341	0
	1,258	1
-1,1	1,117	2
	1,321	1
	1,397	0
	1,354	0
	1,32	0
1,6	1,48	0
	1,58	0
-0,5	1,321	1



1. Tufano A, Coppola A, Minno G Di, Contaldi P, Franchini M. Oral Anticoagulant Drugs and the Risk of Osteoporosis : New Anticoagulants Better than. 2015;1(212):382–9.
2. Rezaieyazdi Z, Falsoleiman H, Khajehdaluae M. Reduced bone density in patients on long-term warfarin. 2009;130–5.
3. Paper O. Long-Term Oral Anticoagulation Therapy and the Risk of Hip Fracture in Patients with Previous Hemispheric Infarction and Nonrheumatic Atrial. 2010;73–8.
4. Namba S, Yamaoka-tojo M, Hashikata T, Ikeda Y, Kitasato L, Hashimoto T, et al. Long-term warfarin therapy and biomarkers for osteoporosis and atherosclerosis. BBACLI [Internet]. 2015;4(February 2014):76–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbacli.2015.08.002>
5. Barnes C, Newall F, Ignjatovic V, Wong P, Cameron F, Jones G, et al. Reduced Bone Density in Children on Long-Term Warfarin. 2005;57(4):578–81.
6. Gu Z, Zhou L, Shen L, Zhang C, Pu J, Lin H. Non-vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants vs . Warfarin at Risk of Fractures : A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. 2018;9(April).
7. Philip WJU, Richardson JM, Reid DM, Webster J, Douglas AS. Decreased axial and peripheral bone density in patients taking long-term warfarin. 1995;635–40.
8. Hans D, Barthe N, Boutroy S, Pothuau L, Winzenrieth R, Krieg M. Correlations Between Trabecular Bone Score , Measured Using Anteroposterior Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Acquisition , and 3-Dimensional Parameters of Bone Microarchitecture : An Experimental Study on Human Cadaver Vertebrae. J Clin Densitom [Internet]. 2011;14(3):302–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jocd.2011.05.005>
9. Kanis JA, Melton LJ, Christiansen C, Johnston CC, Khaltsev N. The Diagnosis of Osteoporosis. 1994;9(8):1137–41.
10. Guidelines for preclinical evaluation and clinical trials in osteoporosis. World Health Organization Geneva; 1998.
11. Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. 2006;1726–33.
12. Edgard T, Neto R, I JS. Risk factors for osteoporotic fractures and low bone

- density in pre and postmenopausal women Fatores de risco para fratura por osteoporose e baixa densidade óssea em mulheres na pré e pós-menopausa. 2010;44(3):479–85.
13. Stolnicki B, Oliveira G. Para que a primeira fratura seja a última. *Rev Bras Ortop* [Internet]. 2015;51(2):121–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbo.2015.03.009>
  14. WHO SCIENTIFIC GROUP ON THE ASSESSMENT OF OSTEOPOROSIS AT PRIMARY HEALTH. (May 2004):5–7.
  15. Cézar S, Bernardo W, Patrícia A, Paula D, Albergaria B, Moreira C, et al. Original article Brazilian guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis. 2017;(x x):1–15.
  16. Siris ES, Adler R, Bilezikian J, Bolognese M, Favus MJ. The clinical diagnosis of osteoporosis : a position statement from the National Bone Health Alliance Working Group. 2014;
  17. FRAX Tool. Instrumento de avaliação do risco de fratura [Internet]. Sheffield: Center for Metabolic Bone Diseases; 2008. Disponível em: <https://www.shef.ac.uk/FRAX/tool.jsp?lang=pt>.
  18. Zerbini CAF, Szejnfeld VL, Abergaria BH, Mccloskey E V. Incidence of hip fracture in Brazil and the development of a FRAX model. 2015;
  19. Painter SE, Kleerekoper M. Review Article SECONDARY OSTEOPOROSIS : 2006;12(4):60153.
  20. Harper KD, Weber TJ. Secondary Osteoporosis - Diagnostic Considerations. 1998;27(2):325–48.
  21. Cairns JR, Price PA. Direct Demonstration That the Vitamin K-Dependent Bone Gla Protein Is Incompletely  $\gamma$ -Carboxylated in Humans. 1994;9(12).
  22. Ishii H, Kurihara S, Hirai K, Yanai K, Ookawara S, Morishita Y. Warfarin-induced impairment of bone material quality in a patient undergoing maintenance hemodialysis.
  23. Booth SL, Centi A, Smith SR, Gundberg C. The role of osteocalcin in human glucose metabolism : marker or mediator ? *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2012;9(1):43–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2012.201>
  24. Huang H, Liu PP, Hsu J, Lin S, Peng CC, Wang J, et al. Risk of Osteoporosis in Patients With Atrial Fibrillation Using. 2020;
  25. Woo C, Chang ALL, Ewing ASK, Bauer DC. Single-Point Assessment of

- Warfarin Use and Risk of Osteoporosis in Elderly Men. 2008;1171–6.
26. Silva BC, Leslie WD, Resch H, Lamy O, Lesnyak O, Binkley N, et al. Trabecular Bone Score : A Noninvasive Analytical Method Based Upon the DXA Image. 2014;29(3):518–30.
  27. McCloskey E V, Od A, Harvey NC, Leslie WD, Hans D, Johansson H, et al. J BMR A Meta-Analysis of Trabecular Bone Score in Fracture Risk Prediction and Its Relationship to FRAX. 2016;31(5):940–8.
  28. Pothuaud L, Carceller P, Hans D. Correlations between grey-level variations in 2D projection images ( TBS ) and 3D microarchitecture : Applications in the study of human trabecular bone microarchitecture. 2008;42:775–87.
  29. Silva BC, Leslie WD. Trabecular Bone Score- A New DXA – Derived Measurement for Fracture Risk Assessment. *Endocrinol Metab Clin NA* [Internet]. 2016; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecl.2016.09.005>
  30. Hans D, Goertzen AL, Krieg M, Leslie WD. Bone Microarchitecture Assessed by TBS Predicts The Manitoba Study. 2011;26(11):2762–9.
  31. Leib E, Winzenrieth R, Aubry-rozier B, Hans D. Vertebral microarchitecture and fragility fracture in men : A TBS study. *Bone* [Internet]. 2014;62:51–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2013.12.015>
  32. Silva BC, Broy SB, Boutroy S, Schousboe JT, Shepherd JA, Leslie WD. 2015 ISCD Position Development Conference Fracture Risk Prediction by Non-BMD DXA Measures : the 2015 ISCD Official Positions Part 2 : Trabecular Bone Score. *J Clin Densitom* [Internet]. 2015;18(3):309–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jocd.2015.06.008>
  33. Fusaro M, Carbonare LD, Dusso A, Arcidiacono MV, Valenti MT, Aghi A, et al. Differential Effects of Dabigatran and Warfarin on Bone Volume and Structure in Rats with Normal Renal Function. 2015;1–15.
  34. Caraballo PJ, Heit JA, Atkinson EJ, Silverstein MD, O’Fallon WM, Castro MR, Melton LJ. Long-term use of oral anticoagulants and the risk of fracture. *Arch Intern Med*. 1999 Aug 9-23;159(15):1750-6.
  35. Investigation O. Risk of Osteoporotic Fracture in Elderly Patients Taking Warfarin. 2015;166:5–10.
  36. Binding C, Olesen JB, Abrahamsen B, Staerk L, Gislason G, Bonde AN. Osteoporotic Fractures in Patients With Atrial Fibrillation Treated With Conventional Versus Direct Anticoagulants. 2019;74(17).

37. Article O. Incident long-term warfarin use and risk of osteoporotic fractures : propensity-score matched cohort of elders with new onset atrial fibrillation. 2014;1677–84.
38. Hans D, Jr RWD, Greenspan S, Jankowski LG, Kiebzak GM, Petak SM. Skeletal Sites for Osteoporosis Diagnosis : The 2005 ISCD Official Positions. 2006;9(1):15–21.
39. Calculadora de FRAX. Publishing ABRASSO. <https://abrasso.org.br/calculadora/calculadora>. Accessed 11 December 2019.
40. R Development Core Team (2019). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.