

**RENATA CASSEB DE SOUZA CARBONI**

**Aumento das concentrações séricas de YKL-40 e sua expressão nos  
tecidos musculares de pacientes com síndrome antissintetase**

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

Programa de Ciências do Sistema  
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 5890, de 20 de dezembro de 2010. A versão original está disponível na Biblioteca Central FMUSP)

**São Paulo**

**2021**

**RENATA CASSEB DE SOUZA CARBONI**

**Aumento das concentrações séricas de YKL-40 e sua expressão nos  
tecidos musculares de pacientes com síndrome antissintetase**

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

Programa de Ciências do Sistema  
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 5890, de 20 de dezembro de 2010. A versão original está disponível na Biblioteca Central FMUSP)

**São Paulo**

**2021**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

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

©reprodução autorizada pelo autor

Carboni, Renata Casseb de Souza  
Aumento das concentrações séricas de YKL-40 e sua  
expressão nos tecidos musculares de pacientes com  
síndrome antissintetase / Renata Casseb de Souza  
Carboni. -- São Paulo, 2021.

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

Programa de Ciências do Sistema  
Musculoesquelético.

Orientador: Samuel Katsuyuki Shinjo.

Descritores: 1. Biópsia muscular 2. Inflamação  
3. Quitinases 4. Miopatia inflamatória 5. Miosite  
6. Síndrome antissintetase

USP/FM/DBD-221/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Esta Tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

**Nome:** Renata Casseb de Souza Carboni

**Título:** Aumento das concentrações séricas de YKL-40 e sua expressão nos tecidos musculares de pacientes com síndrome antissintetase

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

**Aprovado em:**

**Banca Examinadora**

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

À minha família, em especial ao meu marido Felipe do Amaral Carvalho Carboni e ao nosso grande amor, nossa amada filha Manuela de Souza Carboni por todo amor, estímulo, apoio e compreensão.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela oportunidade de realizar esse trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo por tamanha dedicação, compromisso e paciência. Se tornou nesses anos minha maior inspiração na Reumatologia.

Ao grupo de miopatias inflamatórias da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em especial meu colega de residência e amigo Gustavo Behrens Pinto, quem me ajudou na coleta e organização dos dados, à Virgínia Lúcia Nazário Bonoldi e Marilda Guimarães Silva, ambas fundamentais no preparo e análise dos dados e à Isabela Pires Borges, por toda amizade, gentileza e ajuda nas coletas das amostras e preparo das mesmas.

Ao serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo, em especial as Profas. Dras. Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá e Rosa Maria Rodrigues Pereira, por todo suporte e estrutura disponibilizados

A todos os pacientes e voluntários envolvidos na pesquisa sem os quais essa pesquisa não seria possível.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

# SUMÁRIO

**Lista de abreviaturas e siglas**

**Lista de Figuras**

**Lista de Tabelas**

**Resumo**

***Abstract***

<b>1. Introdução</b> .....	01
1.1. Síndrome antissintetase .....	01
1.2. Epidemiologia .....	02
1.3. Fisiopatogênese .....	02
1.4. Manifestações clínicas.....	03
1.5. Anticorpos anti-aminoacil RNA transportador sintetases .....	06
1.6. Diagnóstico e classificação.....	07
1.7. Outros marcadores .....	08
1.8. Tratamento .....	09
1.9. Proteína 1 similar à quitinase-3 .....	10
<b>2. Justificativas</b> .....	13
<b>3. Objetivos</b> .....	14
<b>4. Pacientes e Métodos</b> .....	15
4.1. Desenho do estudo.....	15
4.2. Grupo controle .....	15
4.3. Critérios de inclusão .....	15
4.4. Critérios de exclusão .....	16
4.5. Métodos.....	16
4.6. Análise de citocinas .....	18
4.7. Análise estatística.....	20
<b>5. Resultados</b> .....	22
<b>6. Discussão</b> .....	33
<b>7. Conclusões</b> .....	38
<b>8. Referências</b> .....	39



9. <b>Anexos</b> .....	49
9.1. Questionários .....	52
9.2. Artigo publicado.....	54

## Lista de abreviaturas e siglas

ALT	Alanina aminotransferase
Anti-ARS	Autoanticorpo anti-aminoacil-RNA transportador sintetases
AST	Aspartato aminotransferase
CPK	Creatinofosfoquinase
CVF	Capacidade vital forçada
DHL	Desidrogenase láctica
DLCO	<i>Diffusion lung capacity for carbon monoxide</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EVA	Escala visual analógica
GM-CSF	<i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
HAQ	<i>Health Assessment Questionnaire</i>
HLA	Antígeno leucocitário humano
IFN	Interferon
IMACS	<i>International Myositis Assessment and Clinical Studies Group</i>
MMT	<i>Manual Muscle Testing</i>
MYOACT	<i>Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scales</i>
PCR	Proteína C reativa
SAS	Síndrome antissintetase
TGF	<i>Transforming growth factor</i>
TNF	<i>Tumoral necrosis factor</i>
VEF1	Volume expiratório forçado no primeiro segundo
VHS	Velocidade de hemossedimentação
YKL-40	Proteína 1 similar à quitinase-3

## Lista de Figuras

- FIGURA 1** - Fluxograma dos indivíduos incluídos no presente estudo..... 22
- FIGURA 2** - Expressão de YKL-40 em tecido muscular de paciente com  
síndrome antissintetase ..... 32

## Lista de Tabelas

- TABELA 1** - Manifestações clínicas cumulativas, painéis de autoanticorpos, concentrações séricas iniciais creatinofosfoquinase, comorbidades e hábito dos pacientes com síndrome antissintese.. 24
- TABELA 2** - *Status* da doença, envolvimento pulmonar e tratamento dos pacientes com síndrome antissintetase ..... 26
- TABELA 3** - Correlação entre as concentrações séricas de YKL-40 e os parâmetros demográficos, clínicos, laboratoriais e pulmonares, *status* de doença, comorbidades de pacientes com síndrome antissintetase ..... 28
- TABELA 4** - Relação entre as concentrações séricas de YKL-40 e outras variáveis (demográficas, clínicas, laboratoriais, parâmetros pulmonares, atividade da doença e comorbidades) de pacientes com síndrome antissintetase..... 30
- TABELA 5** - Análise multivariada ..... 31

## RESUMO

Carboni RCS. *Aumento das concentrações séricas de YKL-40 e sua expressão nos tecidos musculares de pacientes com síndrome antissintetase* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2021.

**Introdução.** A proteína 1 similar à quitinase-3 (YKL-40) tem sido associada a diversos processos fisiológicos, como inflamação, angiogênese, proliferação celular, fibrose e remodelação tecidual. O aumento da concentração sérica de YKL-40 tem sido descrito em várias doenças autoimunes sistêmicas, exceto na síndrome antissintetase (SAS). **Objetivos.** Avaliar a concentração sérica de YKL-40 em pacientes com SAS, e correlacioná-la com parâmetros demográficos, laboratoriais e clínicos, *status* de doença e tratamento medicamentoso. Por fim, avaliar a expressão de YKL-40 nos tecidos musculares destes pacientes. **Métodos.** Trata-se de um estudo transversal, unicêntrico, de 2017 a 2019, que incluiu 64 pacientes adultos com SAS pareados por idade, sexo e etnia com 64 controles saudáveis. As concentrações séricas da YKL-40 foram avaliadas pelo método ELISA, enquanto a expressão da YKL-40 nos tecidos musculares foi analisada por técnica de imuno-histoquímica na biópsia de 5 pacientes. O *status* de doença foi avaliado pelo escore de *Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scales*. **Resultados.** A média de idade dos pacientes foi de  $44,8 \pm 11,8$  anos, com duração mediana da doença de 1,5 (0,0-4,0) anos. Os pacientes eram predominantemente do sexo feminino (82,8%) e brancos (73,4%), comparáveis ao grupo controle. A maioria dos pacientes apresentava doença estável. A mediana da concentração sérica de YKL-40 foi maior no grupo SAS do que no grupo controle: 538,4 (363,4-853,1) pg/mL *versus* 270,0 (201,8-451,9) pg/mL, respectivamente;  $P < 0,001$ . No entanto, após análise multivariada, a YKL-40 não se correlacionou com nenhum parâmetro clínico, laboratorial, *status* de doença ou terapêutica ( $P > 0,05$ ), exceto com a concentração sérica de fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) (correlação de Spearman:  $\rho = 0,382$ ;  $P = 0,007$ ). A YKL-40 estava expressa em tecidos musculares com a presença de infiltrados de células inflamatórias. **Conclusões.** Pacientes com SAS apresentam alta concentração sérica de YKL-40, a qual se correlacionou positivamente com a de TNF- $\alpha$ . No entanto, não houve correlação entre os níveis séricos da YKL-40 com os parâmetros demográficos, *status* de doença, autoanticorpos, comorbidades ou parâmetros terapêuticos. Além disso, a YKL-40 mostrou-se expressa em tecidos musculares com infiltrados de células.

**Descritores:** Biópsia muscular; Inflamação; Quitinases; Miopatia inflamatória; Miosite; Síndrome antissintetase.

## ABSTRACT

Carboni RCS. *Increased serum concentrations of YKL-40 and its expression in the muscle tissues of patients with antisynthetase syndrome* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”, 2021.

**Introduction.** Chitinase-3-like-1 protein (YKL-40) has been associated with many physiological processes, such as inflammation, angiogenesis, cell proliferation, tissue fibrosis, and remodeling. High serum levels of YKL-40 have been described in several systemic autoimmune diseases, but there is still no description of this glycoprotein in antisynthetase syndrome (ASS). **Objectives.** To evaluate YKL-40 serum levels, correlate them with laboratory and clinical parameters, disease status and treatment schemes, and analyze the YKL-40 expression in the muscle tissues of these patients. **Methods.** This cross-sectional single-center study, from 2017 to 2019, that included 64 adult patients with ASS, who were age-, gender- and ethnicity-matched to 64 controls. The serum levels of the YKL-40 analysis were performed by ELISA kit method, whereas the YKL-40 expression in muscle tissues was analyzed by an immunohistochemistry technique in the biopsy of 5 patients. The disease status was assessed by the International Myositis Assessment and Clinical Studies Group set scores. **Results.** The patients' mean age was  $44.8 \pm 11.8$  years, and median disease duration of 1.5 (0.0-4.0) years. These patients were predominantly female (82.8%) and White (73.4%). Most patients had stable disease. The median YKL-40 serum level was significantly higher in the ASS patients when compared to the healthy individuals: 538.4 (363.4-853.1) pg/mL versus 270.0 (201.8-451.9) pg/mL, respectively;  $P < 0.001$ . However, through multivariate analysis YKL-40 serum levels did not correlate with any clinical, laboratory, disease status, or therapeutic parameters ( $P > 0.050$ ), except tumor necrosis factor alpha serum levels (TNF- $\alpha$ ) (Spearman's correlation,  $\rho = 0.382$ ;  $P = 0.007$ ). YKL-40 was highly expressed by inflammatory cells found in muscle biopsy specimens. **Conclusions.** High YKL-40 serum levels were observed in patients with ASS and correlated positively with TNF- $\alpha$  serum levels. However, YKL-40 serum levels did not correlate with any demographic parameters, disease status, autoantibodies, comorbidities, or therapeutic parameters. Moreover, YKL-40 was expressed in muscle tissues with inflammatory cells.

**Descriptors:** Muscle biopsy; Inflammation; Chitinases; Inflammatory myopathy; Myositis; Antisynthetase syndrome.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Síndrome antissintetase

A síndrome antissintetase (SAS) é uma miopatia autoimune sistêmica rara, crônica, caracterizada laboratorialmente pela presença de autoanticorpos anti-aminoacil-tRNA sintetases (anti-ARS). Clinicamente, a SAS é caracterizada pela presença de miosite, artrite, doença pulmonar, bem como a presença de febre, fenômeno de Raynaud e “mãos de mecânico” (CONNORS et al., 2010; WITT et al., 2016; COJOCARU et al., 2016; CAVAGNA et al., 2019; BEHRENS PINTO et al., 2020). Historicamente os primeiros relatos de SAS foram descritos em 1976, após a identificação do autoanticorpo anti-Jo-1 em um paciente com polimiosite e intersticiopatia (WASICEK et al., 1984). Anos depois observaram que aminoacil-RNA transportador sintetase (ARS) era o antígeno alvo do anticorpo anti-Jo-1 e de outros anti-ARS (MATHEWS et al., 1983; TARGOFF et al., 1988). Concomitantemente a presença desses autoanticorpos começou a ser associada a uma síndrome clínica similar constituída por miosite e doença intersticial pulmonar (MARGUERIE et al., 1990; YOSHIDA et al., 1983). SAS foi considerada inicialmente como uma síndrome clínica associada à dermatomiosite ou polimiosite (TARGOFF et al., 1988; MARGUERIE et al., 1990; BERNSTEIN et al., 1984). No entanto com o avanço dos estudos esse conceito mudou e SAS foi definida como uma doença distinta, com características clínicas, laboratoriais e histopatológicas específicas (MARCO et al., 2020; IMBERT-MASSEAU et al., 2003).

## 1.2. Epidemiologia

Embora haja poucos estudos epidemiológicos disponíveis na literatura, estima-se uma incidência anual de miosite anti-Jo-1 positivo de 1,25 a 2,5 por milhão de habitantes e uma prevalência de 1,5/100 mil indivíduos (IMBERT-MASSEAU et al., 2003). A SAS é 2 a 3 vezes mais frequente em mulheres do que em homens, têm maiores prevalências na raça branca e em adultos, com a média de idade de início entre 43 e 60 anos (COJOCARU et al., 2016; IMBERT-MASSEAU et al., 2003; SOLOMON et al., 2011).

## 1.3. Fisiopatogênese

Como na maioria das doenças autoimunes sistêmicas, acredita-se que a SAS resulte de uma ruptura de tolerância imunológica, resultando em autorreatividade do sistema imunológico (HERIER et al., 2019). Postula-se de que a SAS ocorra em uma pessoa geneticamente suscetível exposta a fatores ambientais (MARCO et al., 2020; IMBERT-MASSEAU et al., 2003).

Vários haplótipos HLA foram associados ao risco de miopatias autoimunes sistêmicas como, por exemplo, os HLADRB1 \*0301, DQA1 \*0501 e DQB1 \*0201 – aumentam o risco para o desenvolvimento de SAS com anti-Jo-1 positivo, sendo o HLA DRB1 \*03:01 visto em 73% dos europeus (COJOCARU et al., 2016; MARCO et al., 2020; IMBERT-MASSEAU et al., 2003).



#### 1.4. Manifestações clínicas

A SAS acomete diversos órgãos e sistemas, sendo a tríade clássica constituída por: miosite, doença pulmonar intersticial e artrite (COJOCARU et al., 2016). Tais acometimentos raramente apresentam-se simultaneamente, sendo característico da SAS o surgimento de suas manifestações durante meses a anos de acompanhamento dos pacientes (CAVAGNA et al., 2015; GONZÁLEZ-GAY et al., 2014, CAVAGNA et al., 2017; BARTOLONI et al., 2017; HERVIER et al., 2013; BACCARO et al., 2020).

Em relação aos sintomas constitucionais, de modo geral, ocorrem em pelo menos 50% dos casos. Dentre eles os principais são: febre, sendo esta um achado característico da SAS quando comparado com as outras miopatias autoimunes sistêmicas, fadiga, perda ponderal, como se vê na maioria das inflamações sistêmicas. No entanto, a perda ponderal importante e persistente deve chamar atenção para associação com processo neoplásico (HERVIER et al., 2013).

O acometimento muscular pode acontecer posteriormente a outras manifestações sistêmicas, têm uma prevalência em torno de 74% - 100% e apresenta-se de forma variável podendo ser desde formas sem sintomas, apenas com alteração de enzimas musculares, até mialgia, hipotrofia, atrofia e fraqueza muscular (JOUNEAU et al., 2015; SOUZA et al., 2013; MARIE et al., 2012). A fraqueza muscular quando presente, geralmente, é insidiosa, proximal, bilateral e simétrica dos membros (WITT et al., 2016). Pode também ocorrer disfagia, caracterizando pior prognóstico (HERVIER et al., 2013). Embora seja uma miopatia inflamatória, existem casos amiopáticos, nos quais não apresentam alterações clínicas, laboratoriais ou na eletroneuromiografia (WITT et al., 2016; HERVIER et al., 2013).

Em relação à avaliação muscular, eletroneuromiografia e ressonância magnética (RM) muscular podem ajudar nos casos duvidosos e a biópsia muscular confirmar os achados inflamatórios no tecido muscular (COJOCARU et al., 2016; HERVIER et al., 2013). No entanto como na SAS as características clínicas e laboratoriais são típicas a biópsia muscular nem sempre é necessária (WITT et al., 2016; MESCAM-MANCINI et al., NOGUCHI et al., 2017).

A apresentação articular mais comum e menos grave é a poliartralgia, geralmente de pequenas articulações, mas pode ocorrer poliartrite sendo esta geralmente não erosiva e não deformante (MEYER et al., 2019; PARK et al., 2011; CAVAGNA et al., 2010). Em alguns pacientes a poliartrite pode ser deformante e grave. Nesses casos, a dosagem de fator reumatoide e de antipeptídeo citrulinado cíclico pode ser útil para afastar uma possível sobreposição com a artrite reumatoide (HERVIER et al., 2013).

Com relação ao acometimento pulmonar, a intersticiopatia é o principal achado, com prevalência de 77% a 89%, a qual varia principalmente com perfil de autoanticorpos (JOUNEAU et al., 2015; MARIE et al., 2012). A intersticiopatia pode acontecer antes do diagnóstico de SAS, ocorrer concomitantemente ou, menos comum, aparecer durante o seguimento (JOUNEAU et al., 2015).

Os pacientes dificilmente não apresentam sintomas e as principais manifestações incluem dispneia e tosse, podendo ainda apresentar dor torácica, intolerância a exercícios físicos e insuficiência respiratória (JOUNEAU et al., 2015; LABIRUA et al., 2010). O quadro pulmonar pode apresentar-se de forma aguda, subaguda ou crônica (esta pode ser assintomática e diagnosticada através dos exames de imagem). No quadro agudo geralmente há tosse, febre e dispneia sendo na maioria das vezes

tratado como infecção respiratória. No entanto, não se isola nenhum micro-organismo e não há resposta a antibioticoterapia (TILLIE-LEBLOND et al., 2008).

A tomografia computadorizada de alta resolução é o exame padrão ouro, não sendo necessária biópsia. Os principais padrões tomográficos encontrados são infiltrados em vidro fosco e infiltrados reticulares. Histologicamente, a pneumopatia intersticial inespecífica é o tipo mais comum (COTTIN et al., 2003; DOUGLAS et al., 2001). A principal causa de morbimortalidade em SAS é a doença pulmonar intersticial; em alguns casos, pode ser a manifestação clínica predominante e mais grave, apresentando um início rápido, evoluindo para insuficiência respiratória aguda, sendo, algumas vezes, refratária aos tratamentos instituídos (JOUNEAU et al., 2015; SCHNEIDER et al., 2017).

As demais alterações satélites descritas na SAS possuem poucos dados na literatura. O fenômeno de Raynaud, é um fenômeno vascular presente em 50% dos casos de SAS (JOUNEAU et al. 2015; SCHMIDT et al., 2000) e as denominadas “mãos de mecânico”, sinal clássico, mas não específico, caracterizadas por rachaduras ou fissuras nos coxins cutâneos digitais palmares e laterais contribuem com o diagnóstico, principalmente nas formas amiopáticas, e relacionam-se com atividade da doença (SELVA-O´CALLAGHAN et al., 2010; YANG et al.,2008). Outras lesões cutâneas menos comuns como *rash* malar, fotossensibilidade e vasculite cutânea podem estar presentes na SAS (SHINJO et al., 2010).

De modo geral, as características clínicas típicas incluem a tríade clássica além de fenômeno de Raynaud, febre e “mãos de mecânico” (WITT et al., 2016; IMBERT-MASSEAU et al., 2003; BORTOLANI et al., 2017). Entretanto, o diagnóstico é muitas vezes desafiador, pois nem sempre a tríade clássica (artrite, miosite e intersticiopatia)

está presente no início do quadro (CAVGANA et al., 2017; BORTOLONI et al., 2017; LEFEVRE et al., 2015). Além disso, a apresentação clínica e o curso da doença diferem dependendo do autoanticorpo anti-ARS presente (SOUZA et al., 2013; ROJAS-SERRANO et al., 2015).

### **1.5. Anticorpos anti-aminoacil-RNA transportador sintetases**

Laboratorialmente, a SAS é caracterizada pela presença de anti-ARS, que incluem: anti-Jo-1 (o mais frequente), anti-PL-7, anti-PL-12, anti-OJ, anti-EJ, anti-Zo, anti-KS e anti-Ha (HERVIER et al., 2013; SCHNEIDER et al., 2017; HENGSTMAN et al., 2004).

Os anticorpos anti-ARS, por sua vez, se dirigem contra o complexo sintetase-RNA transportador, sendo as sintetases enzimas citoplasmáticas responsáveis por transportar, durante a fase de translação da síntese proteica, os aminoácidos específicos para o RNA transportador correspondente (WITT et al., 2016; KATZAP et al., 2011). Ademais tais anticorpos estão presentes em 20% - 40% das polimiosites e em 5% de dermatomiosite.

A presença dos autoanticorpos anti-ARS prevê desenvolvimento de intersticiopatia e o perfil de algumas características clínicas da síndrome como frequência e gravidade da artrite e miosite (COJOCARU et al., 2016). Por exemplo, pacientes anti-Jo-1 positivos apresentam melhor prognóstico em relação aos negativos (ROJAS-SERRANO et al., 2015). Tal fato tem sido associado a maior frequência de intersticiopatia grave em pacientes anti -Jo-1 negativos.

Outro exemplo é a forte associação descrita entre a presença de PL-7 e PL-12 e doença pulmonar intersticial grave (SOUZA et al., 2013). Esse dado também é comprovado pela necessidade de tratamentos mais agressivos nos grupos dos pacientes “não anti-Jo-1” (ROJAS-SERRANO et al., 2015). A detecção de anticorpos associados a miosite como o anti-Ro-52 também é possível na SAS e confere maior gravidade à síndrome sob ponto de vista pulmonar (BAUHAMMER et al., 2016).

O envolvimento articular na SAS é mais descrito nos indivíduos anti Jo-1 positivo e está relacionado com sobrevida maior do que aqueles sem envolvimento articular. De forma condizente, a literatura mostra menor frequência e quadros mais leves de artrite e miosite nos pacientes anti-PL-7 positivos, além de intersticiopatia sem miosite naqueles anti-PL-12 e anti-KS positivos (HERVIER et al., 2013; ROJAS-SERRANO et al., 2015; ROSA et al., 2014).

Já o envolvimento muscular resistente a glicocorticoides, com alto risco de recidivas a curto e longo prazo são mais frequentes em pacientes anti-Jo-1 positivo (CAVAGNA et al., 2015; CAVAGNA et al., 2017; BARTOLONI et al., 2017).

## **1.6. Diagnóstico e classificação**

Não existe ainda um critério classificatório validado para SAS, sendo uma necessidade relevante dentro do tema a validação de um critério satisfatório (CAVAGNA et al., 2018). Até o momento, os critérios classificatórios mais utilizados nos estudos são os de Connors et al. no qual o paciente com SAS deve ter: um anticorpo anti-ARS associado a pelo menos uma das características a seguir: miosite,

artrite, pneumopatia intersticial, fenômeno de Raynaud, febre persistente e inexplicada ou “mãos de mecânico” (CONNORS et al., 2010).

Outros três critérios classificatórios disponíveis na literatura são o de Solomon et al. (SOLOMON et al., 2011), Cavagna et al. (CAVAGNA et al., 2019) e Behrens Pinto et al. (BEHRENS PINTO et al., 2020). Solomon et al. consideram como critérios maiores a presença de miosite ou doença intersticial pulmonar e como critérios menores a presença de artrite, fenômeno de Raynaud ou “mãos de mecânico”. Para a definição de SAS é necessária a presença do anticorpo anti-ARS mais dois critérios maiores ou um maior e dois menores. Cavagna et al. (CAVAGNA et al., 2019) classificam os pacientes em SAS completa e incompleta, sendo necessário para inclusão a presença do anticorpo anti-ARS e pelo menos um achado da tríade clássica. Quando apresenta todas as manifestações da tríade clássica é classificada como completa, se houver apenas uma ou duas das manifestações é classificada como incompleta. Behrens Pinto et al. (BEHRENS PINTO et al., 2020), por sua vez, utilizaram como critério a presença de autoanticorpo anti-ARS e pelo menos duas das três manifestações principais da doença: envolvimento muscular, articular e/ou pulmonar. Além disto, a presença de pelo menos um dos seguintes itens: “mãos de mecânico”, fenômeno de Raynaud, febre de origem indeterminada.

### **1.7. Outros marcadores**

Os autoanticorpos miosite-específicos são valiosos biomarcadores séricos para o diagnóstico, classificação e prognóstico dos pacientes com miopatias autoimunes

sistêmicas. No entanto, ainda não há um biomarcador sérico estabelecido que se relacione com fisiopatogênese, diagnóstico e atividade de doença em SAS.

Dentro deste contexto, estudos estão sendo realizados correlacionando a concentração sérica de diversas citocinas, como por exemplo,  $IFN\gamma$ , IL-1a e IL-1b, IL-6, IL-15, IL-17, IL-18,  $TGF\beta$  e  $TNF\alpha$  nesses pacientes, com quadro clínico, laboratorial, evolutivo e terapêutico (BEHRENS PINTO et al., 2020; LUNDBERG et al., 1997; GONO et al., 2014).

Em SAS, nota-se que a evolução para fibrose, tanto pulmonar quanto muscular, acarreta em desfechos desfavoráveis, dentro dos diversos biomarcadores envolvidos com fibrose e estudados na literatura podemos atentar para a glicoproteína quitinase (YKL-40) já descrita em algumas doenças, dentre elas a esclerose sistêmica e artrite reumatoide (LA MONTAGNA et al., 2003; NORDENBAEK et al., 2005; JOHANSEN et al., 1999; JAFARI-NAKHJAVANI et al., 2019; VAANANEN et al., 2017; PELTOMAA et al., 2003).

## 1.8. Tratamento

Por se tratar de uma doença rara, o tratamento de SAS baseia-se em relatos e séries de casos ou em ensaios clínicos com um número pequeno de pacientes envolvidos (WITT et al., 2016; FASANO et al., 2017). Embora não haja estudos controlados e randomizados, o glicocorticoide continua sendo a terapia de primeira linha para SAS (DALAKAS et al., 1993; JOFFE et al., 1993). Como poupadores dessa medicação e para evitar recorrência dos sintomas durante o desmame, preconiza-se o

uso de diversos imunossupressores ou imunomoduladores, tais como metotrexato, micofenolato de mofetila, azatioprina, leflunomida, tacrolimo, ciclofosfamida, ciclosporina, rituximabe e imunoglobulina intravenosa humana (WITT et al., 2016; DALAKAS et al., 1993).

Até o momento não existem métricas específicas para avaliar atividade de doença em SAS, dessa forma extrapolamos os instrumentos para avaliação clínica validados pelo IMACS para avaliação das miopatias autoimunes sistêmicas (RIDER et al., 2003; RIDER et al., 1997; HARRIS-LOVE et al., 2009; MILLER et al., 2001; BRUCE et al., 2003).

Também não há critérios validados para avaliar a resposta clínica, o tempo de uso das medicações e redução dessas medicações nos casos dos pacientes com a doença em remissão.

### **1.9. Proteína 1 similar à quitinase-3**

A proteína 1 similar à quitinase-3 ou YKL-40 é uma glicoproteína humana de aproximadamente 40kDa, recebe esse nome devido a sua estrutura similar a quitinase, enzima responsável por clivar a quitina, presente em fungos e insetos e o nome YKL-40 é derivado de 3 aminoácidos terminais: Y/Tyr/tirosina, K/Lys/lisina, L/Leu/leucina. Nos seres humanos não têm atividade enzimática e é secretada principalmente por macrófagos e neutrófilos (HAKALA et al., 1993; DE CEUNINK et al., 2011). A YKL-40 tem suas funções parcialmente conhecidas e tem sido associada a diversos processos fisiológicos, como inflamação, proliferação celular, angiogênese, fibrose e remodelação tecidual, entre outros (LEE et al., 2011). YKL-40 também participa de uma ampla gama



de respostas inflamatórias, incluindo a estimulação da produção de citocinas pró-inflamatórias (por exemplo, IL-6, IL-18 e TNF- $\alpha$ ), que são capazes de aumentar os níveis séricos de YKL-40 como mecanismo de *feedback* (PRAKASH et al., 2013; KAZAKOVA et al., 2017).

Elevada concentração sérica de YKL-40 foi descrita na osteoartrite (HUANG et al., 2009) e em várias doenças autoimunes sistêmicas, como artrite reumatoide (JOHANSEN et al., 1999; JAFARI-NAKHJAVANI et al., 2019; VAANANEN et al., 2017; PELTOMAA et al., 2001), arterite de células gigantes (JOHANSEN et al., 1999), esclerose sistêmica (LA MONTAGA et al., 2003; NORDENBAEK et al., 2005), arterite de Takayasu (SUN et al., 2019) e miopatias autoimunes sistêmicas (HOZUMI et al., 2017; GAO et al., 2019; JIANG et al., 2019).

Neste contexto, Hozumi et al. (HOZUMI et al., 2017) mostraram alta concentração sérica de YKL-40 em pacientes com dermatomiosite e polimiosite com doença pulmonar intersticial associada. A YKL-40 foi associada ao pior prognóstico e encontrou-se expressa sobretudo pelos macrófagos alveolares e células epiteliais brônquicas. Gao et al. (GAO et al., 2019) também observaram alta concentração sérica de YKL-40 em pacientes com dermatomiosite e polimiosite, e essas concentrações correlacionaram-se de uma forma positiva com intersticiopatia, atividade/gravidade da doença. Já Jiang et al. (JIANG et al., 2019) observaram uma correlação positiva entre as concentrações de YKL-40 e pacientes com dermatomiosite clinicamente amiopática e anti-MDA-5 positivo, especialmente naqueles com doença pulmonar intersticial grave.

Dessa forma, até o momento não existem estudos avaliando as concentrações séricas de YKL-40 em pacientes com SAS, nem a avaliação da expressão dessa

glicoproteína nos tecidos musculares desses pacientes, ademais essa glicoproteína nunca foi descrita previamente em biópsias musculares em miopatias inflamatórias.

## 2. JUSTIFICATIVAS

Sabe-se que SAS é uma doença rara, com características distintas das demais miopatias autoimunes sistêmicas, elevada morbimortalidade, descrita recentemente e por isso com escassez de dados na literatura. Dessa forma a identificação de biomarcadores que possam ser úteis para melhor compreensão da fisiopatogênese e elucidação diagnóstica é um importante avanço dentro do tema SAS.

A YKL-40 parece desempenhar um papel importante na perpetuação da atividade pró-fibrótica e estar envolvida na patogênese das miopatias inflamatórias autoimunes (PRAKASH et al., 2013; HOZUMI et al., 2017; GAO et al., 2019; JIANG et al., 2019). Entretanto, essa glicoproteína nunca foi investigada em pacientes com a SAS.

### 3. OBJETIVOS

#### **Primários:**

- Avaliar a concentração sérica de YKL-40 de pacientes com SAS;

#### **Secundário:**

- Correlacionar a concentração sérica de YKL-40 com os parâmetros demográficos, clínicos, laboratoriais, *status* de doença e tratamento de pacientes com SAS;
- Analisar a expressão da YKL-40 em amostras de tecidos musculares desses pacientes.

## **4. PACIENTES E MÉTODOS**

### **4.1. Desenho do estudo**

Trata-se de um estudo transversal, unicêntrico, realizado no período entre 2017 e 2019, no qual foram incluídos 64 pacientes adultos com SAS, em acompanhamento regular no Serviço de Reumatologia, Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de ética local (número: 93517218.8.0000.0068), e todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### **4.2. Grupo controle**

Os pacientes com SAS foram comparáveis para idade e pareados por sexo e etnia para indivíduos controles saudáveis. Esses indivíduos eram familiares dos pacientes, funcionários da presente instituição (HCFMUSP/SP) ou acompanhantes dos pacientes. Todos os exames laboratoriais foram realizados no grupo controle e as entrevistas foram realizadas, exceto aquelas relacionadas aos dados da doença.

### **4.3. Critérios de inclusão**

Embora ainda não haja critérios classificatórios validados, todos os pacientes preencheram os critérios classificatórios de SAS propostos por Behrens Pinto et al.

(BEHRENS PINTO et al., 2020) os quais se baseiam nos critérios de Connors porém com algumas modificações a fim de aumentar a especificidade. Dessa forma os pacientes incluídos apresentavam pelo menos duas das três manifestações: envolvimento muscular, envolvimento pulmonar e/ou articular, além de febre persistente, fenômeno de Raynaud e/ou “mãos de mecânico”. Laboratorialmente, todos apresentavam um dos autoanticorpos anti-ARS (CONNORS et al., 2010; BEHRENS PINTO et al., 2020).

#### **4.4. Critérios de exclusão**

Foram excluídos pacientes com outras doenças autoimunes sistêmicas (síndrome de sobreposição), asma, sarcoidose, infecção crônica ou aguda, miosites associadas às neoplasias, gestantes e pacientes com comorbidades graves ou não controladas (por exemplo, doença hepática, nefropatia e doença cardíaca).

#### **4.5. Métodos**

Os pacientes avaliados foram submetidos a uma entrevista padronizada e os seguintes dados foram coletados:

- a) Dados demográficas: sexo, idade atual, etnia;
- b) Dados clínicos: duração da doença, início da doença, envolvimento muscular, articular, pulmonar, fenômeno de Raynaud, febre e “mãos de mecânico”, comorbidades, tratamentos (glicocorticoides, imunossupressores e imunomoduladores);

- c) Dados laboratoriais: concentração sérica de creatinofosfoquinase (CPK, referência: 26-192 U/L), desidrogenase láctica (DHL, 135-214 U/L), aspartato aminotransferase (AST, <31 U/L) e alanina aminotransferase (ALT, <31 U/L);
- d) O *status* da doença (clínico e laboratorial) foi avaliado aplicando-se os seguintes questionários e pontuações do *International Myositis Assessment na Clinical Groups Study* (IMACS): *Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scales* (MYOACT) o qual avalia tanto a parte muscular como domínios extramusculares sendo que cada domínio recebe uma pontuação varia de 0 a 10 (zero sem atividade e 10 doença muito ativa) e posteriormente a somatória desses domínios é dividida por 60 (RIDER et al., 2003; RIDER et al., 1997), *Manual Muscle Testing 8* (MMT-8) para avaliação da força muscular (de 0 a 10) em 8 grupos musculares , pode variar de 0 a 80, sendo “zero” ausência de movimento; e 10 o músculo permanece na posição mesmo aplicando-se uma pressão intensa (RIDER et al., 2003; HARRIS-LOVE et al., 2009), avaliação geral da doença pelo médico e paciente por meio de uma escala visual analógica (EVA) que pode variar de 0 (sem evidência de atividade da doença) até 10 (atividade de doença) (MILLER et al., 2001; BRUCE et al., 2003) e *Health Assessment Questionnaire* (HAQ) questionário que varia de 0 (sem atividade de doença) até 3,00 (limitação/doença em atividade) (BRUCE et al., 2003);
- e) Avaliação muscular: o envolvimento muscular foi definido como a presença de fraqueza muscular proximal e progressiva dos membros, aumento das concentrações séricas de enzimas musculares (por exemplo: CPK), eletroneuromiografia mostrando um padrão miopático e/ou biópsia muscular sugestiva de uma miopatia inflamatória;

- f) Avaliação articular: o envolvimento articular foi definido como artrite ou artralgia, não deformante e não erosiva;
- g) Avaliação pulmonar: foi definido envolvimento pulmonar paciente com queixas clínicas e alterações em tomografia computadorizada de tórax de alta resolução (TCAR). Os seguintes parâmetros foram avaliados: pneumopatia incipiente, opacidades em vidro fosco com ou sem bronquiectasia, nódulos pulmonares e fibrose pulmonar (áreas em favo de mel) (CONNORS et al., 2010; DEBRAY et al., 2015; WASEDA et al., 2016). As TCARs foram realizadas seis meses antes até seis meses após o período em que os indivíduos foram incluídos no estudo. Quando possível, a avaliação pulmonar foi complementada pela prova de função pulmonar, considerando o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1), capacidade vital forçada (CVF), relação VEF1/CVF e capacidade de difusão do monóxido de carbono (DLCO);
- h) Identificação de autoanticorpos anti-ARS: anti-Jo-1, anti-EJ, anti-OJ, anti-PL-7, anti-PL-12, e também anti-Ro-52 (*kit de teste Myositis Profile Euroline Blot*, Euroimmun, Lübeck, Alemão). A avaliação foi realizada de acordo com métodos previamente estabelecidos (CRUELLAS et al., 2016). Os padrões imunológicos avaliados foram anticorpos antinucleares (ANA) detectados por técnica de imunofluorescência indireta utilizando células Hep-2 como substrato.

#### **4.6. Análise de citocinas**

Imediatamente após a coleta do sangue (< 30 minutos), o material foi centrifugado a 3000 rpm por 10 min, e os soros aliquotados e armazenados a - 80°C



para posterior análise das citocinas. A quantificação do YKL-40 foi realizada por meio de um *kit* específico (kit Human CHI3L1 ELISA, RayBiotech, EUA) e processada de acordo com o protocolo do fabricante. O interferon (IFN)- $\gamma$  e o TNF- $\alpha$  foram realizados usando o LUMINEX 200x, xMAP, Technology (Millipore, EUA), conforme já descrito na literatura (SADA et al., 2006).

Além disso, a expressão e a localização do YKL-40 foram avaliadas em tecidos musculares de cinco pacientes com SAS, cujas biópsias musculares foram realizadas no músculo vasto lateral no momento do diagnóstico (investigação clínica). Cortes congelados sequenciais de 5  $\mu$ m de espessura foram primeiro corados pela hematoxilina-eosina (HE) e, em seguida, foi realizada a imuno-histoquímica. Para a análise imuno-histoquímica, foram utilizados anticorpos monoclonais (CD4, CD8, CD68 e YKL-40; Abcam, EUA). Amostras congeladas foram fixadas por 10 min em acetona à 4 °C. A peroxidase endógena foi bloqueada com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 1% em metanol absoluto três vezes por 10 min. Após lavagem em solução salina tamponada com fosfato (PBS 0,01 M, pH 7,4) por 5 min, as amostras foram incubadas em soro fetal em câmara úmida por 1 hora à 37 °C. Os anticorpos primários foram diluídos em PBS e albumina de soro bovino a 1% aplicada em câmara úmida à 37 °C. Em seguida, as lâminas foram lavadas em PBS, o anticorpo secundário biotilado (StreptABComplex/HRP) foi aplicado por 30 min à 37 °C e enxaguado em PBS. Em seguida, o complexo StreptABComplex/HRP preparado foi aplicado e incubado durante 30 min à 37 °C. Posteriormente a lavagem em PBS, as reações foram visualizadas após incubação com uma solução de substrato cromogênico (3,3'-diaminobenzidina tetrahidrocloro) para peroxidase. Após uma lavagem final, foi realizada a contra-coloração com

hematoxilina. As lâminas foram montadas e cobertas com um meio de montagem de base aquosa. As preparações de todas as amostras de músculo foram feitas ao mesmo tempo como um lote. A amígdala humana foi usada como controle positivo. A fenotipagem de células inflamatórias (CD4, CD8, CD68) foi analisada nas áreas de endomísio, perimísio, perivascular (endomísio e perimísio) em 10 campos diferentes (aumento 200x).

#### **4.7. Análise estatística**

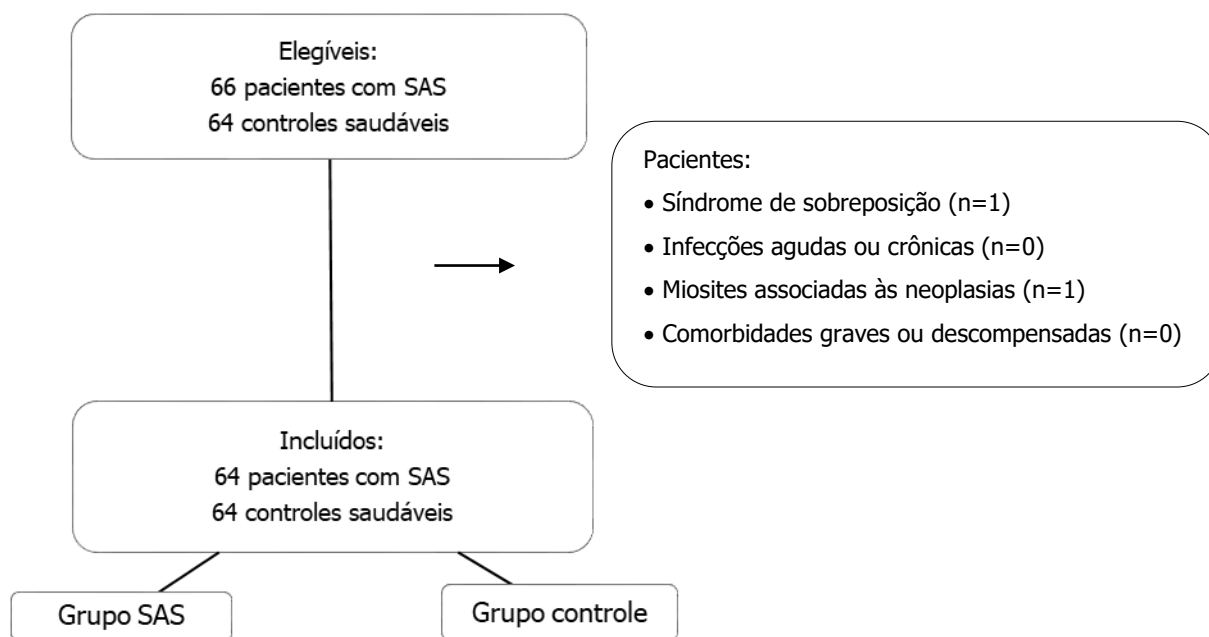
Para avaliar a distribuição de cada parâmetro foi usado o teste de Kolmogorov-Smirnov. As características clínicas e demográficas foram expressas como média  $\pm$  desvio padrão (DP) para variáveis contínuas que tiveram distribuição normal e como frequências e porcentagens (%) para variáveis categóricas. A mediana (interquartil 25% - 75%) foi calculada para as variáveis contínuas que não tiveram distribuição normal. As comparações entre os parâmetros do grupo SAS e do grupo controle foram feitas usando o teste de Mann-Whitney e o teste *t*-Student para variáveis contínuas, enquanto o teste exato de Fisher ou o teste do qui-quadrado foram usados para avaliar as variáveis categóricas. A correlação (*rho*) entre os parâmetros foi analisada usando a correlação de Spearman. Consideramos valores fracos entre 0 e  $\pm 0,333$ ; moderado entre  $\pm 0,333$  e  $\pm 0,666$ ; e forte entre  $\pm 0,666$  e  $\pm 1,000$ . A relação entre os valores de YKL-40 e outras variáveis (identificadas como presença ou ausência de determinada característica) foi realizada por meio do teste *t* de Student. Para analisar os fatores que juntos poderiam influenciar nas concentrações de YKL-40, foi realizada uma regressão múltipla considerando todas as variáveis com valor de  $P < 0,10$  como explicativas e o

valor de YKL-40 como dependentes. Um valor de  $P < 0,05$  foi adotado para indicar significância estatística. Todas as análises foram realizadas com o software estatístico SPSS 22.0 (IL, Chicago, EUA).

## 5. RESULTADOS

Sessenta e seis pacientes com SAS foram inicialmente incluídos no presente estudo. Dois pacientes foram excluídos: um por sobreposição e outro por miosite associada à neoplasia. Não houve pacientes com infecção aguda ou crônica, grávidas ou com comorbidades graves e descompensadas. Portanto, 64 pacientes com SAS foram avaliados, comparados por idade e pareados por sexo e etnia com 64 controles saudáveis (**FIGURA 1**).

**FIGURA 1** - Fluxograma dos indivíduos incluídos no presente estudo



SAS: síndrome antissintetase.

A média de idade dos 64 pacientes com SAS e dos 64 indivíduos controle foi de  $44,8 \pm 11,8$  anos e  $42,6 \pm 10,4$  anos, respectivamente ( $P = 0,278$ ), com predominância do sexo feminino (73,4%) e etnia branca (82,8%) em ambos os grupos. A mediana da duração da doença foi de 1,5 (0,0 - 4,0) anos.

As manifestações clínicas iniciais e cumulativas dos pacientes com SAS estão apresentadas na **TABELA 1**. As manifestações clínicas cumulativas foram envolvimento muscular (95,3%), seguido de envolvimento articular (92,2%) e pulmonar (89,1%). As “mãos de mecânico”, fenômeno de Raynaud e febre estavam presentes em 89,1%, 78,1% e 71,9% dos casos, respectivamente.

**TABELA 1** - Manifestações clínicas cumulativas, painéis de autoanticorpos, concentrações séricas iniciais de creatinofosfoquinase, comorbidades e hábitos dos pacientes com síndrome antissintetase

<b>Parâmetros</b>	<b>n=64</b>
<b>Manifestações clínicas cumulativas</b>	
Envolvimento muscular	61 (95,3)
Envolvimento articular	59 (92,2)
Envolvimento pulmonar	57 (89,1)
Vidro fosco	46 (71,9)
Pneumopatia incipiente	40 (62,5)
Fibrose pulmonar	14 (21,9)
Nódulos pulmonares	11 (17,2)
“Mãos de mecânico”	57 (89,1)
Fenômeno de Raynaud	50 (78,1)
Febre	46 (71,9)
<b>Painel de autoanticorpos</b>	
FAN	52 (81,3)
Anti-Ro-52	28 (43,8)
Anti-RNA transportador sintetase	64 (100)
Anti-Jo-1	52 (81,3)
Anti-PL-12, anti-PL-7 ou anti-EJ	12 (18,7)
Anti-OJ	0
Creatinofosfoquinase inicial (U/L)	3015 (632-8463)
<b>Comorbidades</b>	
Hipertensão arterial sistêmica	22 (34,4)
Diabetes mellitus	12 (18,8)
Hipotireoidismo	3 (4,7)
Infarto agudo do miocárdio	3 (4,7)
Acidente vascular encefálico	1 (1,6)
<b>Hábitos</b>	
Tabagismo atual	7 (10,9)
Tabagismo prévio	11 (17,2)

Dados apresentados em média  $\pm$  desvio padrão, mediana (25% - 75%) ou frequência (%).

SAS: síndrome antissintetase.

Em relação aos resultados laboratoriais, todos os pacientes apresentavam autoanticorpos anti-ARS, enquanto 81,3% e 43,8% dos pacientes apresentavam, respectivamente, FAN e anti-Ro-52. Além disso, no início da doença, a concentração média inicial de CPK era 3015 (632 - 8463) U/L.

Presença de hipertensão arterial sistêmica foi observada em 34,4% dos pacientes, enquanto que diabetes mellitus em 18,8% dos pacientes, hipotireoidismo compensado em 4,7% dos pacientes, infarto agudo do miocárdio em 4,7% dos pacientes e acidente vascular cerebral em 1,6% dos pacientes. O tabagismo atual e prévio foi observado, respectivamente, em 10,9% e 17,2% dos pacientes com SAS (**TABELA 1**).

O *status* atual da doença, quando os pacientes foram incluídos neste estudo, está apresentado na **TABELA 2**. Em geral, o valor médio do MMT-8 foi 78 (71 - 80), EVA do paciente de 4,0 (2,0 - 6,0), EVA do médico de 3,0 (0 - 5,0), MYOACT de 0,1 (0,0 - 0,2) e HAQ de 0,67 (0,13 - 1,38), com concentração sérica relativamente baixa de enzimas musculares.

Avaliações de tomografia computadorizada de tórax mostraram que mais da metade dos pacientes apresentavam evidências de doença pulmonar incipiente (62,5%) e lesões em “vidro fosco” (71,9%), e aproximadamente um quinto dos pacientes apresentavam evidências de fibrose pulmonar (21,9%).

Em relação aos testes de função pulmonar, 39 pacientes realizaram o exame, e a mediana da CVF foi de 62,5 (48,0 - 73,5)%, VEF1 de 64 (49 - 77)%, a relação VEF1/CVF de 0,90 (0,93 - 1,08) e DLCO de 61,0 (37,8 - 73,0)%.

Analisando o tratamento, 71,9% dos pacientes estavam em uso de glicocorticoide, com mediana de prednisona na dose de 10 (0 - 40) mg/dia. Além disso,

47 (73,4%) pacientes estavam usando drogas imunossupressoras/imunomoduladores (por exemplo: azatioprina, metotrexato, micofenolato de mofetila, ciclofosfamida, ciclosporina e/ou leflunomida) e 16 (25,0%) estavam usando rituximabe (**TABELA 2**).

**TABELA 2** - Status da doença, envolvimento pulmonar e tratamento dos pacientes com síndrome antissintetase

	SAS (N=64)	Controle (N=64)	P
<b>Escore de IMACS</b>			
MMT-8 (0-80)	78 (71-80)	-	-
EVA paciente (0-10)	4,0 (2,0-6,0)	-	-
EVA médico (0-10)	3,0 (0,0-5,0)	-	-
MYOACT (0-60)	0,1 (0,0-0,2)	-	-
HAQ (0,00-3,00)	0,67 (0,13-1,38)	-	-
CPK (26-192 U/L)	208 (98-597)	106 (78-161)	<0,001
DHL (135-214 U/L)	352 (243-590)	346 (312-345)	0,937
AST (<31 U/L)	24 (17-37)	20 (16-23)	0,009
ALT (<31 U/L)	24 (16-57)	18 (13-25)	0,030
<b>Envolvimento pulmonar</b>			
Vidro fosco	46 (71,9)	-	-
Pneumopatia incipiente	40 (62,5)	-	-
Fibrose pulmonar	14 (21,9)	-	-
CVF (% previsto), n=39	62,5 (48,0-73,5)	-	-
VEF1 (% previsto), n=39	64 (49-77)	-	-
VEF1/CVF, n=39	0,90 (0,93-1,08)	-	-
DLCO <sub>2</sub> (% previsto), n=39	61,0 (37,8-73,0)	-	-
<b>Tratamento</b>			
Prednisona			
Uso atual	46 (71,9)	-	-
Dose (mg/dia)	10 (0-40)	-	-
Imunossupressores/imunomoduladores			
Azatioprina	23 (35,9)	-	-
Micofenolato de mofetila	11 (17,2)	-	-
Metotrexato	14 (21,9)	-	-
Antimaláricos	4 (6,3)	-	-
Leflunomida	2 (3,1)	-	-
Ciclosporina	3 (4,7)	-	-
Ciclofosfamida	1 (1,7)	-	-



Rituximabe	16 (25,0)	-	-
<b>Citocinas</b>			
YKL-40 (pg/mL)	538,4 (363,4-853,1)	270,0 (201,8-451,9)	<0,001
IFN $\gamma$ (pg/mL)	0,02 (0,00-1,89)	0,02 (0,00-0,17)	0,876
TNF $\alpha$ (pg/mL)	48,4 (31,0-66,3)	39,6 (29,3-49,0)	0,011

Dados apresentados em média  $\pm$  desvio padrão, mediana (25% - 75%) ou frequência (%).

ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; CPK: creatinofosfoquinase; CVF: capacidade vital forçada; DHL: desidrogenase láctica; DLCO<sub>2</sub>: *Diffusion lung capacity for carbon monoxide*; HAQ: *Health Assessment Questionnaire*; MMT: *Manual Muscle Testing*; VEF1: volume expiratório forçado no primeiro segundo; MYOACT: *Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scales*; EVA: escala visual analógica; SAS: síndrome antissintetase.

As concentrações séricas de YKL-40 foram maiores nos pacientes com SAS, quando comparados ao grupo controle: 538,4 (363,4 - 853,1) pg/mL *versus* 270,0 (201,8 - 451,9) pg/mL, respectivamente;  $P < 0,001$  (**TABELA 2**). Além disso, um aumento da concentração sérica de TNF- $\alpha$  foi observado em pacientes com SAS em comparação ao grupo controle: 48,4 (31,0 - 66,3) pg/mL *versus* 39,6 (29,3 - 49,0) pg/mL;  $P = 0,011$ . A concentração sérica de IFN- $\gamma$  foi comparável em ambos os grupos.

Em relação aos parâmetros demográficos, clínicos, laboratoriais, de tratamento e de comorbidade, os níveis séricos de YKL-40 tiveram correlação com a idade dos pacientes ( $\rho = 0,294$ ;  $P = 0,040$ ), TNF- $\alpha$  ( $\rho = 0,382$ ;  $P = 0,007$ ) e uma associação com o uso atual de prednisona ( $P = 0,047$ ) - **TABELAS 3 e 4**. Porém, na análise multivariada, apenas as concentrações de TNF- $\alpha$  tiveram de forma independente fator significativo para predizer os valores de YKL-40 (**TABELA 5**).

**TABELA 3** - Correlação entre as concentrações séricas de YKL-40 e os parâmetros demográficos, clínicos, laboratoriais e pulmonares, status de doença, comorbidades de pacientes com síndrome antissintetase

<b>Parâmetros</b>	<b>rho</b>	<b>P</b>
<b>Parâmetros demográficos</b>		
Idade	0,294	0,050
<b>Parâmetros clínicos</b>		
Febre	0,070	0,631
Fenômeno de Raynaud	0,144	0,324
“Mãos de mecânico”	-0,045	0,757
Envolvimento muscular	-0,219	0,131
Envolvimento articular	-0,190	0,192
<b>Parâmetros laboratoriais</b>		
Fator antinuclear	-0,150	0,302
Anti-Ro-52	0,006	0,969
Anti-Jo-1	-0,054	0,714
Anti-PL-7	0,206	0,157
Anti-PL-12	0,032	0,829
Anti-EJ	-0,219	0,131
Anti-OJ	-	-
TNF- $\alpha$	0,382	0,007
IFN- $\gamma$	0,125	0,125
<b>Envolvimento pulmonar</b>		
Vidro fosco	-0,070	0,630
Pneumopatia incipiente	-0,123	0,401
Fibrose pulmonar	0,204	0,160
CVF (%)	0,018	0,930
VEF1 (%)	0,089	0,667
VEF1/CVF	-0,066	0,758
DLCO <sub>2</sub> (%)	0,533	0,091
<b>Status da doença</b>		
Manual muscle testing-8 (MMT-8)	0,037	0,801
Escala visual analógica do paciente	-0,173	0,239
Escala visual analógica do médico	-0,234	0,110
MYOACT	-0,077	0,614
Health assessment questionnaire (HAQ)	0,166	0,266
Creatinofosfoquinase	0,131	0,371
Desidrogenase láctica	0,138	0,460
Aspartato aminotransferase	0,033	0,854
Alanina aminotransferase	0,034	0,866
<b>Tratamento</b>		
Prednisona		
Uso atual	0,217	0,139
Dose (mg/dia)	0,193	0,190

Imunossupressores/ imunobiológicos		
Azatioprina	0,012	0,935
Micofenolato de mofetila	-0,011	0,939
Metotrexato	0,138	0,345
Leflunomida	0,010	0,945
Ciclosporina	-0,131	0,369
Ciclofosfamida	-0,061	0,676
Rituximabe	-0,215	0,137
Antimaláricos	-0,022	0,881
<hr/>		
Comorbidades		
Hipertensão arterial sistêmica	0,237	0,101
Diabetes mellitus	0,025	0,866
Hipotireoidismo	0,182	0,210
Infarto agudo do miocárdio	0,020	0,889
Acidente vascular encefálico	-0,102	0,485
<hr/>		

CVF: capacidade vital forçada; DLCO<sub>2</sub>: difusão de dióxido de carbono; IFN: interferon; MYOACT: *Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scales*; TNF: *tumor necrosis factor*; VEF1: volume expiratório final no primeiro segundo.

**TABELA 4** - Relação entre as concentrações séricas de YKL-40 e outras variáveis (demográficas, clínicas, laboratoriais, parâmetros pulmonares, atividade de doença e comorbidades) de pacientes com síndrome antissintetase

	Variável ausente		Variável presente		P
	n	média ± DP	n	média ± DP	
<b>Dados demográficos</b>					
Sexo feminino	11	691,3±461,0	53	628,5±363,6	0,658
Caucasianos	17	793,2±468,2	47	572,5±316,7	0,111
<b>Parâmetros clínicos</b>					
Febre	18	579,4±343,8	46	664,3±394,0	0,484
Fenômeno de Raynaud	14	536,6±361,8	50	677,4±382,7	0,255
“Mãos de mecânico”	7	658,6±334,6	57	637±389,2	0,891
Envolvimento muscular	3	980,2±178,7	61	625,6±379,2	0,198
Envolvimento articular	5	973,5±602,1	59	610,4±347,5	0,066
<b>Parâmetros laboratoriais</b>					
Fator antinúcleo	12	685,7±303,5	52	628,4±398,4	0,674
Anti-Ro-52	35	663,9±406,5	28	638,5±348,0	0,818
Anti-Jo-1	11	728,4±455,9	53	617,4±359,7	0,414
Anti-PL-7	60	619,1±377,6	4	876,1±351,5	0,197
Anti-PL-12	60	627,2±360,9	4	784,8±595,5	0,431
Anti-EJ	61	653,7±380,8	3	320,4±52,2	0,227
<b>Envolvimento pulmonar</b>					
Vidro fosco	18	658,2±348,1	46	634,2±392,6	0,851
Pneumopatia incipiente	24	695,9±387,1	40	607,6±376,4	0,437
Fibrose pulmonar	50	586,2±335,7	14	826,2±471,8	0,063
<b>Tratamento</b>					
Prednisona (uso atual)	17	483,3±222,6	46	684,2±406,3	0,047
<b>Imunossupressores/biológicos</b>					
Azatioprina	43	618,9±354,7	21	676,5±425,2	0,613
Micofenolato de mofetila	54	648,4±383,8	10	603,1±375,2	0,750
Metotrexato	52	606,3±338,1	12	790,3±521,9	0,337
Leflunomida	62	642,1±382,5	2	544,0±0	0,801
Ciclosporina	62	650,8±381,1	2	388,7±272,8	0,343
Ciclofosfamida	63	644,0±381,8	1	451,9±0	0,621
Rituximabe	48	690,0±364,8	16	537,0±397,9	0,188
Antimalárico	61	645,3±385,8	3	516,7±91,7	0,643
<b>Comorbidades</b>					
Hipertensão arterial sistêmica	42	590,4±379,9	22	742,5±366,9	0,190
Diabetes mellitus	52	645,1±395,0	12	610,0±283,2	0,823
Hipotireoidismo	61	628,0±381,0	3	922,5±205,8	0,286
Infarto agudo do miocárdio	61	641,6±382,6	3	567,2±0	0,848
Acidente vascular encefálico	63	645,2±381,0	1	391,6±0	0,513

DP: desvio padrão

**TABELA 5** - Análise multivariada

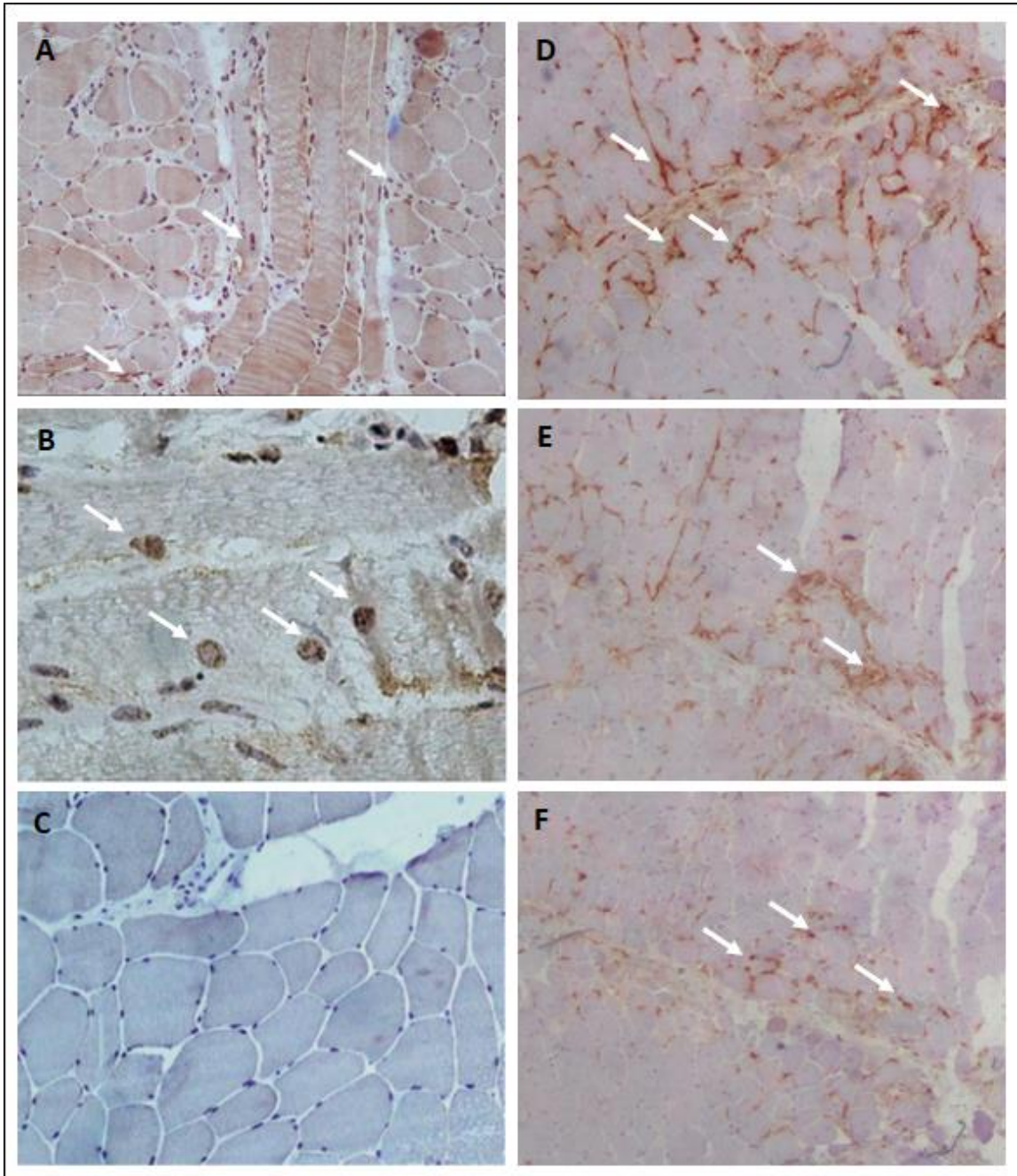
	<b>Coeficiente</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>Mínimo IC 95%</b>	<b>Máximo IC 95%</b>	<b>P</b>
(Constante)	374,3	105,6	161,6	587,0	0,001
Nível de TNF $\alpha$	5,4	1,8	1,7	9,0	0,005

R<sup>2</sup> = 0163

IC: intervalo de confiança

Quanto à análise imuno-histoquímica, a YKL-40 estava expressa em tecidos musculares com a presença de células inflamatórias linfomonocitárias e não se mostrou expressa em tecidos sem infiltrado inflamatório (controle negativo). A **FIGURA 2** ilustra a expressão da YKL-40 em biópsia muscular de um paciente com SAS e a biópsia de outro paciente com SAS controle negativo.

**FIGURA 2** - Expressão de YKL-40 em tecidos musculares de paciente com síndrome antissintetase



Reação de imunohistoquímica positiva para (A) YKL-40, (B) YKL-40 \*; D) CD68, (E) CD4, e (F) CD8. A ampliação é 200x ou 400x \*. Como controle negativo (C), um paciente com síndrome antissintetase, sem nenhum infiltrado inflamatório.

## 6. DISCUSSÃO

Este estudo é o primeiro a identificar a relevância da YKL-40 em pacientes com SAS. Concentrações séricas elevadas de YKL-40 foram observadas em pacientes com SAS e correlacionaram-se positivamente com os níveis séricos de TNF- $\alpha$ . Além disso, YKL-40 foi expressa apenas em tecidos musculares com a presença de células inflamatórias.

Embora a SAS seja uma doença rara, critérios rígidos de inclusão foram usados neste estudo para aumentar a especificidade na seleção desses pacientes. Nesse contexto, foi incluída uma amostra significativa, comparável por idade e pareada para sexo e etnia com indivíduos saudáveis, permitindo maior acurácia nos desfechos comparativos. Por fim, as informações dos pacientes foram baseadas em dados parametrizados e pré-padronizados, garantindo dados confiáveis do estudo.

Sabe-se que a alta expressão da YKL-40 é descrita na patogênese de uma série de doenças, e sua utilidade como biomarcador tem sido objeto de diversos estudos (LA MONTAGNA et al., 2003; NORDENBAEK et al., 2005; JOHANSEN et al., 1999; JAFARI-NAKHJAVANI et al., 2019; VAANANEN et al., 2017; PELTOMAA et al., 2003; HOZUMI et al., 2017; GAO et al., 2019; JIANG et al., 2019; HUANG et al., 2009; SUN et al., 2019). Biologicamente, foi demonstrado que o YKL-40 é capaz de estimular a angiogênese e uma ampla gama de respostas, como inflamação, remodelação de tecidos e alergia. Essas respostas são frequentemente mediadas por outras citocinas (por exemplo, IL-6, IL-18 e TNF- $\alpha$ ), que são capazes de regular a secreção de YKL-40 (PRAKASH et al., 2013; KAZAKOVA et al., 2017).

O YKL-40 foi descrito raramente em estudos de miopatias autoimunes sistêmicas (HOZUMI et al., 2017; GAO et al., 2019; JIANG et al., 2019). Hozumi et al. mostraram níveis séricos elevados de YKL-40 em pacientes com dermatomiosite e polimiosite com doença pulmonar intersticial associada e YKL-40 associou-se a pior prognóstico. Além disso, os autores correlacionaram os níveis de YKL-40 negativamente com DLCO e pressão arterial de oxigênio ( $\text{PaO}_2$ ) e encontraram alta expressão de YKL-40 em macrófagos alveolares e células epiteliais brônquicas. Notavelmente, os autores observaram que 42% de seus pacientes apresentavam autoanticorpos anti-ARS positivos. Portanto, os autores puderam incluir pacientes com SAS e não necessariamente casos de dermatomiosite e polimiosite com doença pulmonar intersticial associada. Além disso, os autores incluíram pacientes com miosite associada a neoplasias. Essas variáveis podem ter corroborado a correlação entre o YKL-40 e a atividade doença/prognóstico. Ademais, não avaliaram a expressão de YKL-40 em tecidos musculares.

Gao et al. também observaram concentrações séricas elevadas de YKL-40 em pacientes com dermatomiosite e polimiosite, correlacionando-se de uma forma positiva com intersticiopatia, atividade/gravidade da doença avaliada através de MYOACT, proteína C reativa, ferritina e velocidade de hemossedimentação. No entanto, os autores não analisaram autoanticorpos anti-ARS em seus pacientes e também não foi realizada análise da expressão da YKL-40 em tecidos musculares.

Jiang et al., por sua vez, encontraram correlação positiva entre as concentrações séricas de YKL-40 e pacientes com dermatomiosite clinicamente amiopática e anti-MDA-5 positivo. Além disto, observaram uma associação positiva de YKL-40 com ocorrência de intersticiopatia nesse grupo de pacientes, principalmente naqueles com



doença pulmonar intersticial grave. Entretanto, não conseguiram demonstrar a origem de YKL-40 nesses pacientes visto que não realizaram biópsia pulmonar, nem muscular.

No presente estudo, as concentrações séricas elevadas de YKL-40 também foram observadas em pacientes com SAS. No entanto, YKL-40 não se correlacionou com quaisquer parâmetros clínicos e laboratoriais, *status* da doença ou esquemas terapêuticos. Também não houve correlação com nenhum parâmetro pulmonar (sintomas pulmonares do paciente, imagens de TCARs pulmonar e testes de função pulmonar). As hipóteses para esses achados são o fato de a maioria dos pacientes estarem estáveis sob ponto de vista de *status* de doença no momento da inclusão e pelo fato de se tratar de um estudo transversal, sendo interessante uma análise prospectiva desses parâmetros. Vale ressaltar que para SAS não há métricas validadas, por isso foi extrapolado o que se usa para miopatias autoimunes sistêmicas de maneira geral, já validado: IMACS. No caso dos pacientes deste estudo podemos dizer que a doença encontrava-se controlada visto os valores de MMT-8, HAQ, MYOACT e EVA próximos dos seus escores de normalidade.

Para analisar o *status* da doença, Hozumi et al. usaram variáveis como ferritina e KL-6 (Krebs von den Lungen-6), SP-D (proteína surfactante-D), PaO<sub>2</sub>, DLCO, enquanto Jiang et al. utilizaram ferritina, CPK, contagem de células T CD3+, proteína C reativa, CVF e DLCO. Em contraste, usamos os escores do IMACS, um instrumento validado para avaliar o *status* das miopatias autoimunes sistêmicas (RIDER et al., 2003; RIDER et al., 1997; HARRIS-LOVE et al., 2009; MILLER et al., 2001; BRUCE et al., 2003).

Uma das limitações do presente estudo foi o fato de não termos analisado simultaneamente a expressão de YKL-40 em amostras de tecidos pulmonares. No

entanto, a expressão de YKL-40 analisada em amostras musculares reforça a hipótese de que a expressão de YKL-40 é sistêmica, e não se limita ao envolvimento pulmonar. Outras limitações do nosso estudo foram a não realização de espirometria em todos os pacientes devido a várias circunstâncias internas, como pacientes com dificuldade para realizar espirometria (dispneia) e falta de equipamento espirométrico disponível na seleção dos pacientes, mesmo com esses testes sendo realizados apenas em uma fase posterior do diagnóstico e tratamento (mais de seis meses); e a análise da pneumopatia na TCAR ter sido apenas descritiva, visto que não existe um critério que quantifique o grau de envolvimento pulmonar em miopatias autoimunes sistêmicas.

YKL-40 pode ser expressa e secretada por vários tipos de células, incluindo macrófagos, neutrófilos e condrócitos. Sua expressão é regulada por diversas citocinas, que medeiam a proliferação, remodelação tecidual e produção de outros mediadores inflamatórios. Na SAS e nas doenças autoimunes sistêmicas, as concentrações séricas elevadas de YKL-40 podem ser provenientes de células inflamatórias sistêmicas ou células locais (por exemplo: sangue, músculo, pele, pulmões ou outros órgãos). Neste contexto, o presente estudo mostrou pela primeira vez a expressão de YKL-40 em tecidos musculares (com processo inflamatório) obtidos de pacientes com SAS.

Como mencionado anteriormente, o YKL-40 é regulado por diferentes citocinas pró-inflamatórias (PRAKASH et al., 2013; KAZAKOVA et al., 2017). Dessa forma, avaliamos as concentrações séricas de TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ .

Concentrações séricas elevadas de TNF- $\alpha$  foram observadas em pacientes com SAS, semelhante ao que ocorre em outras miopatias autoimunes sistêmicas

(SALOMONSSON et al., 2006; LUNDBERG 1995). Na fisiopatogênese das miopatias autoimunes sistêmicas o TNF- $\alpha$  tem papel importante, sua produção é estimulada IL-1, IFN e *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF) e secretada principalmente por macrófagos, além de neutrófilos, células T e monócitos. O TNF- $\alpha$  é responsável por aumentar a expressão de outras citocinas pró-inflamatórias e induzir a produção de YKL-40 (SALOMONSSON et al., 2006; PRAKASH et al., 2013). Esses dados corroboram com nosso estudo, no qual foi encontrado níveis elevados de TNF- $\alpha$  além de correlação positiva moderada entre os níveis séricos de YKL-40 e TNF- $\alpha$ .

Embora o IFN- $\gamma$  esteja envolvido na fisiopatogênese da SAS, não encontramos concentrações séricas elevadas de citocina no presente estudo. O IFN- $\gamma$  tem ação transitória e é rapidamente eliminado na corrente sanguínea sendo, portanto, difícil sua detecção (SALOMONSSON et al., 2006; GALLAY et al., 2019). Na fisiopatogênese das miopatias autoimunes sistêmicas, é descrita a participação das células Th1 e Th2, sendo o IFN- $\gamma$  produzido pelas células Th1, que estão inicialmente presentes; posteriormente haveria regulação das células Th1 para Th2 por outras citocinas inflamatórias, incluindo YKL-40 (HOU et al. 2018; ISODA et al., 2017).

## 7. CONCLUSÕES

Há elevada concentração sérica de YKL-40 em pacientes com SAS, a qual se correlaciona positivamente com a de TNF- $\alpha$ .

Há expressão de YKL-40 em tecidos musculares de pacientes com SAS com presença de infiltrado inflamatório.

## 8. REFERÊNCIAS

- Baccaro ACCD, Pinto GLB, Carboni RCS, Shinjo SK. The clinical manifestations at the onset of antisynthetase syndrome: A chameleon with multiple faces. *Reumatismo*. 72.2: 86-92, 2020.
- Bartoloni E, Gonzalez-Gay MA, Scirè C, Castaneda S, Gerli R, Lopez-Longo FJ, et al. Clinical follow-up predictors of disease pattern change in anti-Jo1 positive anti-synthetase syndrome: Results from a multicenter, international and retrospective study. *Autoimmun Rev*. 16: 253-257, 2017.
- Bauhammer J, Blank N, Max R, Lorenz HM, Wagner, U, Krause D, Fiehn C. Rituximab in the Treatment of Jo1 Antibody-associated antisynthetase syndrome: Anti-Ro52 positivity as a marker for severity and treatment response. *J Rheumatol*. 43: 1566-1574, 2016.
- Behrens Pinto GL, Carboni RCS, Souza FHC, Shinjo SK. A prospective cross-sectional study of serum IL-17A in antisynthetase syndrome. *Clin Rheumatol*. 39:2763-2771, 2020.
- Bernstein RM, Morgan SH, Chapman J, Bunn CC, Mathews MB, Turner-Warwick M, et al. Anti-Jo-1 antibody: A marker for myositis with interstitial lung disease. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 289: 151-152, 1984.
- Bruce B, Fries JF. The Stanford Health Assessment Questionnaire: dimensions and practical applications. *Health Qual Life Outcomes*. 1: 20, 2003.
- Cavagna L, Fusetti C, Montecucco C, Caporali R. Anticyclic citrullinated peptide antibodies as markers of erosive arthritis in antisynthetase syndrome. *J Rheumatol*. 37: 1967-1967, 2010.
- Cavagna L, Nuno L, Scire CA, Govoni M, Longo, FJL, Franceschini F, Iannone F. Clinical spectrum time course in anti Jo-1 positive antisynthetase syndrome: results from an international retrospective multicenter study. *Medicine*. 94: 1-7, 2015.

- Cavagna L, Nuño L, Scirè CA, Govoni M, Longo FJL, Franceschini F, et al. Serum Jo-1 Autoantibody and isolated arthritis in the antisynthetase syndrome: review of the literature and report of the experience of AENEAS Collaborative Group. ***Clin Rev Allergy Immunol.*** 52: 71-80, 2017.
- Cavagna L, Castañeda S, Sciré C, Gonzalez-Gay MA. Antisynthetase syndrome or what else? Different perspectives indicate the need for new classification criteria. ***Ann Rheum Dis.*** 77.8: e50-e50, 2018.
- Cavagna, Trallero-Araguás, Meloni, Cavazzana, Rojas-Serrano, Feist, et al. Influence of Antisynthetase antibodies specificities on antisynthetase syndrome clinical spectrum time course. ***J Clin Med.*** 8: 2013, 2019.
- Cojocar M, Cojocar IM, Chicos B. New insights into antisynthetase syndrome. ***Maedica.*** 11.2: 130-135, 2016.
- Connors GR, Christopher-Stine L, Oddis CV, Danoff SK. Interstitial lung disease associated with the idiopathic inflammatory myopathies: What progress has been made in the past 35 years? ***Chest.*** 138: 1464-1474, 2010.
- Cottin V, Thivolet-Bejui F, Reynaud-Gaubert M, Cadranel J, Delaval P, Ternamian PJ, Cordier JF. Interstitial lung disease in amyopathic dermatomyositis, dermatomyositis and polymyositis. ***Eur Respir J.*** 22: 245-250, 2003.
- Cruellas MG, Viana V dos S, Levy-Neto M, Souza FH, Shinjo SK. Myositis-specific and myositis-associated autoantibody profiles and their clinical associations in a large series of patients with polymyositis and dermatomyositis. ***Clinics.*** 68:909-14, 2013.
- Dalakas MC, Illa I, Dambrosia JM, Soueidan SA, Stein DP, Otero C, Dinsmore ST, McCrosky S. A controlled trial of high-dose intravenous immune globulin infusions as treatment for dermatomyositis. ***N Engl J Med.*** 329: 1993-2000, 1993.
- Debray MP, Borie R, Revel MP, Naccache JM, Khalil A, Topper C, et al. Interstitial lung disease in anti-synthetase syndrome: initial and follow-up CT findings. ***Eur J Radiol.*** 84: 516-523, 2015.

- De Ceuninck F, Gauffillier S, Bonnaud A, Sabatini M, Lesur C, Pastoureau P. YKL-40 (cartilage gp-39) induces proliferative events in cultured chondrocytes and synoviocytes and increases glycosaminoglycan synthesis in chondrocytes. ***Biochem Biophys Res Commun.*** 285: 926-931, 2001.
- Douglas WW, Tazelaar HD, Hartman TE, Hartman RP, Decker PA, Schroeder DR, Ryu JH. Polymyositis-dermatomyositis associated interstitial lung disease. ***Am J Respir Crit Care Med.*** 164: 1182-1185, 2001.
- Fasano S, Gordon P, Hajji R, Loyo E, Isenberg DA. Rituximab in the treatment of inflammatory myopathies: a review. ***Rheumatology.*** 56: 26-36, 2017.
- Gallay L, Mouchiroud G, Chazaud B. Interferon-signature in idiopathic inflammatory myopathies. ***Curr Opin Rheumatol.*** 31: 634-642, 2019.
- Gao MZ, Wei YY, Xu QW, Ji R, Han ZJ, Jiang TW. Elevated serum YKL-40 correlates with clinical characteristics in patients with polymyositis or dermatomyositis. ***Ann Clin Biochem.*** 56: 95-99, 2019.
- Gono T, Kaneko H, Kawaguchi Y, Hanaoka M, Kataoka S, Kuwana M, Takagi K, Ishida H, Katsumata Y, Ots, Y, Kawasumi H, Yamanaka, H. Cytokine profiles in polymyositis and dermatomyositis complicated by rapidly progressive or chronic interstitial lung disease. ***Rheumatology.*** 53: 2196-2203, 2014.
- González-Gay MA, Montecucco C, Selva-O'Callaghan A, Trallero-Araguas E, Molberg O, Andersson H, et al. Timing of onset affects arthritis presentation pattern in antisynthetase syndrome. ***Clin Exp Rheumatol.*** 36: 44-49, 2018.
- Hakala BE, White C, Recklies AD. Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family. ***J Biol Chem.*** 268: 25803-25810, 1993.
- Harris-Love MO, Shrader JA, Koziol D, Pahlajani N, Jain M, Smith M, Cintas HL, McGarvey CL, James-Newton L, Pokrovnichka A, Moini B, Cabalar I, Lovell DJ, Wesley R, Plotz PH, Miller FW, Hicks JE, Rider LG. Distribution and severity of

weakness among patients with polymyositis, dermatomyositis, and juvenile dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford)*. 48: 134-139, 2009.

Hengstman GJ, van Engelen BG, van Venrooij WJ. Myositis specific autoantibodies: changing insights in pathophysiology and clinical associations. *Curr Opin Rheumatol*. 16: 692-699, 2004.

Hervier B., Uzunhan Y. Inflammatory myopathy-related Interstitial Lung disease: from pathophysiology to treatment. *Front Med*. 6: 326, 2019.

Hervier B, Benveniste O. Clinical heterogeneity and outcomes of antisynthetase syndrome. *Curr Rheumatol Rep*. 15: 349, 2013.

Hou C, Baba-Amer Y, Bencze M, Relaix F, Authier FJ. The effect of interferon-gamma on skeletal muscle cell biology. *Med Sci*. 34: 35-38, 2018.

Hozumi H, Fujisawa T, Enomoto N, Nakashima R, Enomoto Y, Suzuki Y, et al. Clinical utility of YKL-40 in polymyositis/dermatomyositis-associated interstitial lung disease. *J Rheumatol*. 44: 1394-13401, 2017.

Huang K, Wu LD. YKL-40: a potential biomarker for osteoarthritis. *J Int Med Res*. 37: 18-24, 2009.

Imbert-Masseau A, Hamidou M, Agard C, Grolleau JY CP. Antisynthetase syndrome. *Jt Bone Spine*. 70: 161-168, 2003.

Isoda K, Kotani T, Takeuchi T, Kiboshi T, Hata K, Ishida T, et al. Comparison of long-term prognosis and relapse of dermatomyositis complicated with interstitial pneumonia according to autoantibodies: anti-aminoacyl tRNA synthetase antibodies versus antimelanoma differentiation-associated gene 5 antibody. *Rheumatol Int*. 37: 1335-1340, 2017.

Jafari-Nakhjavani MR, Ghorbanhaghjo A, Bagherzadeh-Nobari B, Malek-Mahdavi A, Rashtchizadeh N. Serum YKL-40 levels and disease characteristics in patients with rheumatoid arthritis. *Caspian J Int Med*. 10: 92-97, 2019.



- Jiang L, Wang Y, Peng Q, Shu X, Wang G, Wu X. Serum YKL-40 level is associated with severity of interstitial lung disease and poor prognosis in dermatomyositis with anti-MDA5 antibody. *Clin Rheumatol*. 38: 1655-1663, 2019.
- Joffe MM, Love LA, Leff RL, Fraser DD, Targoff IN, Hicks JE, Plotz PH, Miller FW. Drug therapy of the idiopathic inflammatory myopathies: predictors of response to prednisone, azathioprine, and methotrexate and a comparison of their efficacy. *Am J Med*. 94: 379-387, 1993.
- Johansen JS, Stoltenberg M, Hansen M, Florescu A, Hørslev-Petersen K, Lorenzen I, et al. Serum YKL-40 concentrations in patients with rheumatoid arthritis: relation to disease activity. *Rheumatology (Oxford)*. 38: 618-626, 1999.
- Johansen, JS, Baslund, B, Garbarsch, C, Hansen, M, Stoltenberg, M, Lorenzen, I, Price PA. YKL-40 in giant cells and macrophages from patients with giant cell arteritis. *Arthritis Rheumatism*. 42: 2624-2630, 1999.
- Jouneau S, Hervier B, Jutant EM, Decaux O, Kambouchner M, Humbert M, Deleval P, Montani D. Pulmonary manifestations of antisynthetase syndrome. *Revue Maladies Respiratoires*. 32: 618-628, 2015.
- Katzap E, Barilla-LaBarca ML MG. Antisynthetase syndrome. *Curr Rheumatol Rep*. 13: 175-181, 2011.
- Kazakova MH, Batalov AZ, Mateva NG, Kolarov ZG and Sarafian VS. YKL-40 and cytokines-A new diagnostic constellation in rheumatoid arthritis? *Folia Medica*. 59: 37-42, 2017.
- La Montagna G, D'Angelo S, Valentini G.J. Cross-sectional evaluation of YKL-40 serum concentrations in patients with systemic sclerosis. Relationship with clinical and serological aspects of disease. *J Rheumatol*. 30: 2147-2151, 2003.
- Labirua A, Lundberg IE. Interstitial lung disease and idiopathic inflammatory myopathies: progress and pitfalls. *Curr Opin Rheumatol*. 22: 633-638, 2010.

- Lee CG, Da Silva CA, Dela Cruz CS, Ahangari F, Ma B, Kang MJ, et al. Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury. ***Ann Rev Physiol.*** 73: 479-501, 2011.
- Lefevre G, Meyer A, Launay D, Machelart I, DeBandt M, Michaud J, Timsit MA. Seronegative polyarthritis revealing antisynthetase syndrome: a multicentre study of 40 patients. ***Rheumatology.*** 54: 927-932, 2015.
- Lundberg I, Brengman JM, Engel AG. Analysis of cytokine expression in muscle in inflammatory myopathies, Duchenne dystrophy, and non-weak controls. ***J Neuroimmunol.*** 63: 9-16, 1995.
- Lundberg I, Ulfgren AK, Nyberg P, Andersson U, Klareskog L. Cytokine production in muscle tissue of patients with idiopathic inflammatory myopathies. ***Arthritis Rheumatol.*** 40: 865-874, 1997.
- Marco JL, Collins BF. Clinical manifestations and treatment of antisynthetase syndrome. ***Best Pract Res Clin Rheumatol.*** 101503, 2020
- Marguerie C, Bunn CC, Beynon HLC, Bernstein RM, Hughes JMB, So AK, et al. Polymyositis, pulmonary fibrosis and autoantibodies to aminoacyl-tRNA synthetase enzymes. ***QJM.*** 77: 1019-1038, 1999.
- Marie I, Jossea S, Decauxb O, Dominiquec S, Diotd E, Landrone C, Roblote P, Jouneaub S, Hatronf PY, Tievg KP, Vittecoqh O, Noela D, Mouthoni L, Menardj JF, Jouen F. Comparison of long-term outcome between anti-Jo1-and anti-PL7/PL12 positive patients with antisynthetase syndrome. ***Autoimmun Rev.*** 11: 739-745, 2012.
- Mathews MB, Bernstein RM. Myositis autoantibody inhibits histidyl-tRNA synthetase: a model for autoimmunity. ***Nature.*** 304:177-179, 1983.
- Mescam-Mancini L, Allenbach Y, Hervier B, Devilliers H, Mariampillay K, Dubourg O, et al. Anti-Jo-1 antibody-positive patients show a characteristic necrotizing perifascicular myositis. ***Brain.*** 138: 2485-2492, 2015.

- Meyer O, Charlanne H, Cherin P, Allanore, Y, Coquerelle P, Grardel B, Hachulla E. Subluxing arthropathy: an unusual manifestation of the antisynthetase syndrome. ***Ann Rheum Dis.*** 68: 152-153, 2009.
- Miller FW, Rider GL, Chung YL, Cooper R, Danko K, Farewell V, Lundberg I, Morrison C, Oakley L, Oakley I, Pilkington C, Vencovsky J, Vincent K, Scott DL, Isenberg DA; International Myositis Outcome Assessment Collaborative Study Group. Proposed preliminary core set measures for disease outcome assessment in adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies. ***Rheumatology (Oxford).*** 40: 1262-1273, 2001.
- Noguchi E, Uruha A, Suzuki S, Hamanaka K, Ohnuki Y, Tsugawa J, et al. Skeletal muscle involvement in antisynthetase syndrome. ***JAMA Neurol.*** 2017; 74: 992-999.
- Nordenbaek C, Johansen JS, Halberg P, Wiik A, Garbarsch C, Ullman S, et al. High serum levels of YKL-40 in patients with systemic sclerosis are associated with pulmonary involvement. ***Scand J Rheumatol.*** 34: 293-297, 2005.
- Park CK, Kim TJ, Cho YN, Kim IS, Lee HJ, Lee KE, Seo SR. Development of antisynthetase syndrome in a patient with rheumatoid arthritis. ***Rheumatol Int.*** 31: 529-532, 2011.
- Peltomaa R, Paimela L, Harvey S, Helve T, Leirisalo-Repo M. Increased level of YKL-40 in sera from patients with early rheumatoid arthritis: a new marker for disease activity. ***Rheumatol Int.*** 20: 192-196, 2001.
- Prakash M, Bodas M, Prakash D, Nawani N, Khetmalas M, Mandal A, et al. Diverse pathological implications of YKL-40: Answers may lie in 'outside-in' signaling. ***Cell Signalling.*** 25: 1567-1573, 2013.
- Rider LG, Giannini EH, Harris-Love M, Joe G, Isenberg D, Pilkington C, Lachenbruch PA, Miller FW; International Myositis Assessment and Clinical Studies Group. Defining Clinical Improvement in Adult and Juvenile Myositis. ***J Rheumatol.*** 30: 603-617, 2003.

- Rider LG, Feldman BM, Perez MD, Rennebohm RM, Lindsley CB, Zemel LS, Wallace CA, Ballinger SH, Bowyer SL, Reed AM, Passo MH, Katona IM, Miller FW, Lachenbruch PA. Development of validated disease activity and damage indices for the juvenile idiopathic inflammatory myopathies: I. Physician, parent, and patient global assessments. Juvenile Dermatomyositis Disease Activity Collaborative Study Group. **Arthritis Rheum.** 40: 1976-1983, 1997.
- Rojas-Serrano J, Herrera-Bringas D, Mejía M, Rivero H, Mateos-Toledo H, Figueroa JE. Prognostic factors in a cohort of antisynthetase syndrome (ASS): serologic profile is associated with mortality in patients with interstitial lung disease (ILD). **Clin Rheumatol.** 34: 1563-1569, 2015.
- Rosa SA, Barreto P, Mariano M, Baptista I. Inflammatory myopathy and interstitial lung disease in antisynthetase syndrome with PL-7 antibody. **BMJ Case Rep.** 204390. 2014.
- Sada KE, Yamasaki Y, Maruyama M, Sugiyama H, Yamamura M, Maeshima Y, et al. Altered levels of adipocytokines in association with insulin resistance in patients with systemic lupus erythematosus. **J Rheumatol.** 33: 1545-1552, 2006.
- Salomonsson S, Lundberg IE. Cytokines in idiopathic inflammatory myopathies. **Autoimmunity.** 39: 177-190, 2006.
- Schmidt WA, Wetzel W, Friedländer R, Lange R, Sörensen HFK, Lichey HJ, Gromnica-Ihle E. Clinical and serological aspects of patients with anti-Jo-1 antibodies - an evolving spectrum of disease manifestations. **Clin Rheumatol.** 19: 371-377, 2000.
- Schneider F, Yousem SA, Oddis CV, Aggarwal R. Pulmonary pathologic manifestations of anti-alanyl-tRNA synthetase (Anti-PL-12) - Related Inflammatory Myopathy. **Arch Pathol Lab Med.** 142: 191-197, 2017.
- Selva-O'Callaghan A, Fonollosa-Pla V, Trallero-Araguás E, Martínez-Gómez X, Simeon-Aznar CP, Labrador-Horrillo M, Vilardell-Tarrés M. Nailfold capillary

- microscopy in adults with inflammatory myopathy. *Sem Arthritis Rheum.* 39: 398-404, 2010.
- Shinjo SK, Levy-Neto M. Síndrome antissintetase anti-Jo-1. *Rev Bras Reumatol.* 60: 492-500, 2010.
- Solomon J, Swigris JJ, Brown KK. Doença pulmonar intersticial relacionada a miosite e a síndrome antissintetase. *J Bras Pneumol.* 37: 100-109, 2011.
- Souza FHC, Cruellas MGP, Levy-Neto M, Shinjo, SK. Anti-synthetase syndrome: anti-PL-7, anti-PL-12 and anti-EJ. *Rev Bras Reumatol.* 53: 352-357, 2013.
- Sun Y, Kong X, Wu S, Ma L, Yan Y, Lv P, et al. YKL-40 as a new biomarker of disease activity in Takayasu arteritis. *Int J Cardiol.* 293: 231-237, 2019.
- Targoff IN, Arnett FC, Reichlin M. Antibody to threonyl-transfer RNA synthetase in myositis sera. *Arthritis Rheum.* 31: 515-524, 1988.
- Tillie-Leblond I, Wislez M, Valeyre D, Crestani B, Rabbat A, Israel-Biet D, Cadranel J. Interstitial lung disease and anti-Jo-1 antibodies: difference between acute and gradual onset. *Thorax.* 63: 53-59, 2008.
- Väänänen T, Vuolteenaho K, Kautiainen H, Nieminen R, Möttönen T, Hannonen P, et al NEO-RACo Study Group. Glycoprotein YKL-40: A potential biomarker of disease activity in rheumatoid arthritis during intensive treatment with csDMARDs and infliximab. Evidence from the randomised controlled NEO-RACo trial. *PloS One.* 12: e0183294, 2017.
- Waseda Y, Johkoh T, Egashira R, Sumikawa H, Saeki K, Watanabe S, et al. Antisynthetase syndrome: pulmonary computed tomography findings of adult patients with antibodies to aminoacyl-tRNA synthetases. *Eur J Radiol.* 85: 1421-1426, 2016.
- Wasicek CA, Reichlin M, Montes M, Raghu G. Polymyositis and interstitial lung disease in a patient with anti-Jo1 prototype. *Am J Med.* 76: 538-544, 1984.

Witt LJ, Curran JJ, Streck ME. The diagnosis and treatment of antisynthetase syndrome. *Clin Pulm Med.* 23: 218-26, 2016.

Yang CJ, Sheu CC, Ou TT, Hwang JJ, Huang MS. Combined lung fibrosis and “mechanic’s hand”: a clinical diagnostic clue to amyopathic antisynthetase syndrome. *Respirology.* 13: 611-614, 2008.

Yoshida S, Akizuki M, Mimori T, Yamagata H, Inada S, Homma M. The precipitating antibody to an acidic nuclear protein antigen, the Jo-1, in connective tissue diseases. *Arthritis Rheum.* 26: 60-611, 1983.

## 9. ANEXOS



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Síndrome antissintetase: citocinas séricas pró-fibróticas

**Pesquisador:** Samuel Katsuyuki Shinjo

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 93517218.8.0000.0068

**Instituição Proponente:** Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

**Patrocinador Principal:** FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.903.799

#### Apresentação do Projeto:

Estudo de coorte que visa complementar dois projetos previamente aprovados pelo Comitê de Ética local do HCFMUSP, com análise retrospectiva de dados clínicos/laboratoriais de pacientes com síndrome antissintetase (n=60) e controles (n=60).

#### Objetivo da Pesquisa:

Caracterizar o perfil demográfico, clínico, laboratorial, terapêutico e evolutivo dos pacientes com síndrome antissintetase. Avaliar nível de concentração de citocinas pró-fibróticas (por ex.: YKL-40 e CXCL4) em pacientes com síndrome antissintetase - Correlacionar as citocinas pró-fibróticas séricas com os parâmetros demográficos, clínicos, laboratoriais, evolutivos e tratamento de pacientes com síndrome antissintetase. Projeto de Doutorado com participação de Renata Casseb de Souza Carboni e Gustavo Luiz Behrens Pinto.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos (amostras já coletadas) e não há benefícios diretos.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os soros previamente coletados e armazenados em biorrepositório serão utilizados para análise de citocinas (soro).

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

Dispensa TCLE

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
**Bairro:** Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010  
**UF:** SP **Município:** SÃO PAULO  
**Telefone:** (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS  
CLÍNICAS DA FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.903.799

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

Sem pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1159703.pdf	10/07/2018 09:26:33		Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRostoFinal.pdf	10/07/2018 09:24:08	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Cronograma	Cronograma.doc	10/07/2018 09:22:51	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Outros	SGP.pdf	29/06/2018 16:01:43	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.doc	27/06/2018 12:47:53	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Outros	GLBP.pdf	27/06/2018 12:47:23	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Outros	RCSC.pdf	27/06/2018 12:46:59	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Outros	Aprovacao2.pdf	15/06/2018 11:17:22	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Outros	Aprovacao1.pdf	15/06/2018 11:17:07	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010  
UF: SP Município: SAO PAULO  
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br





USP - HOSPITAL DAS  
CLÍNICAS DA FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.903.799

SAO PAULO, 19 de Setembro de 2018

---

**Assinado por:**  
**ALFREDO JOSE MANSUR**  
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010  
UF: SP Município: SAO PAULO  
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

## 9.1. Questionários

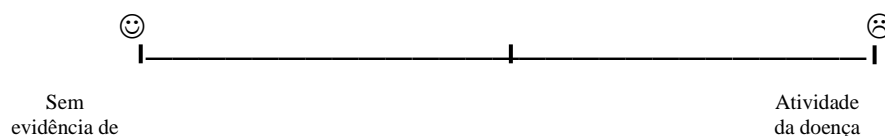
### **MMT (lado direito, 0-10)**

Flexão cervical	_____
Delhoide	_____
Biceps braquial	_____
Gluteo máximo	_____
Gluteo médio	_____
Quadríceps	_____
Extensor do punho	_____
Dorsiflexão plantar	_____

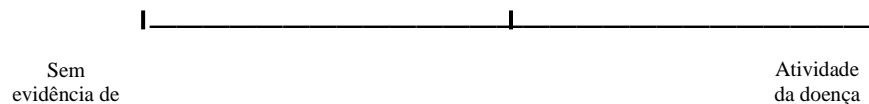
### **MYOACT** (pontuado pelo médico em uma escala visual analógica de 0-10 a atividade manifesta nos seguintes domínios e posteriormente o valor foi dividido por 60:)

CONSTITUCIONAL	0 _____ 10
GASTRINTestinal	0 _____ 10
PULMONAR	0 _____ 10
CARDÍACO	0 _____ 10
MUSCULAR	0 _____ 10
CUTÂNEO	0 _____ 10

### **Escala Visual Analógica (Paciente)**



### **Escala Visual Analógica (Médico)**



### **HAQ**

#### **Capacidade habitual DURANTE A SEMANA PASSADA**

	em QUALQUER dificuldade	Com ALGUMA dificuldade	Com MUITA dificuldade	Incapaz de fazer
<b>1 VESTIR-SE E ARRUMAR-SE</b>				
- Vestir-se, inclusive amarrar os cordões dos sapatos e abotoar suas roupas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>2 LEVANTAR-SE</b>				
- Lavar sua cabeça e seus cabelos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Levantar-se de maneira ereta de uma cadeira de encosta reto e sem braços?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Deitar-se e levantar-se da cama?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>3 COMER</b>				
- Cortar um pedaço de carne?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Levantar a boca um copo ou uma xícara cheio de café, leite ou água?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Abrir um saco de leite comum?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>4 ANDAR</b>				
- Caminhar em lugares planos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Subir cinco degraus?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>5 HIGIENE PESSOAL</b>				
- Lavar e secar seu corpo após o banho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Tomar banho de chuveiro?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Sentar-se e levantar-se de um vaso sanitário?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>6 ALCANÇAR COISAS</b>				
- Levantar os braços e pegar um objeto de aproximadamente 2,5kg que está posicionado pouco acima da cabeça?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Curvar-se para pegar suas roupas no chão?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>7 AGARRAR</b>				

- |  |                          |                          |                          |                          |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| - Segurar-se em pe no ônibus ou metro?                                     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - Abrir potes ou vidros de conservas que tenham sido previamente abertos?  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - Abrir e fechar torneiras?  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| <b>8 ATIVIDADES</b>  |                          |                          |                          |                          |
| - Fazer compras nas redondezas onde mora?                                  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - Entrar em e sair de um ônibus?   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| - Realizar tarefas tais como usar a vassoura para varrer e rodo para água? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

## 9.2. Artigo publicado

Carboni et al. *Advances in Rheumatology* (2021) 61:44  
<https://doi.org/10.1186/s42358-021-00199-z>

Advances in Rheumatology

RESEARCH

Open Access

## High YKL-40 serum levels and its expression in the muscle tissues of patients with antisynthetase syndrome



Renata Casseb de Souza Carboni, Gustavo Luiz Behrens Pinto and Samuel Katsuyuki Shinjo<sup>\*</sup>

### Abstract

**Background:** The protein chitinase-3-like-1 (YKL-40) is rarely analyzed in patients with myositis. Therefore, we aimed to evaluate YKL-40 serum levels; correlate them with laboratory and clinical parameters, disease status, and treatment schemes; and analyze the YKL-40 expression in the muscle tissues of patients with antisynthetase syndrome (ASSD).

**Methods:** This cross-sectional single-center study included 64 adult patients with ASSD who were age-, gender-, and ethnicity-matched to 64 healthy control individuals. Their YKL-40 serum levels were analyzed using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kit method, while YKL-40 expression in muscle tissues was analyzed using an immunohistochemical technique. Disease status was assessed using the International Myositis Assessment and Clinical Studies Group (IMACS) set scores.

**Results:** The patients' mean age was  $44.8 \pm 11.8$  years, and median disease duration was 1.5 (0.0–4.0) years. These patients were predominantly female (82.8%) and Caucasian (73.4%). Most patients had stable disease. The median YKL-40 serum level was significantly higher in patients with ASSD when compared to the healthy individuals: 538.4 (363.4–853.1) pg/mL versus 270.0 (201.8–451.9) pg/mL, respectively;  $P < 0.001$ . However, YKL-40 serum levels did not correlate with any clinical, laboratory, disease status, or therapeutic parameters ( $P > 0.050$ ), except tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) serum levels (Spearman's correlation,  $\rho = 0.382$ ;  $P = 0.007$ ). YKL-40 was highly expressed by inflammatory cells found in muscle biopsy specimens.

**Conclusions:** High YKL-40 serum levels were observed in patients with ASSD and correlated positively with TNF- $\alpha$  serum levels. Moreover, YKL-40 was expressed by the inflammatory cells of the muscle tissue.

**Keywords:** Antisynthetase syndrome, Chitinase, Inflammatory myopathy, Muscle biopsy, Myositis