Leonardo Valente de Camargo

**Estudo clínico, histológico, imunoistoquímico e da função
lisossomal na miosite por corpos de inclusão**

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

Programa de Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Edmar Zanoteli

São Paulo

2016

Leonardo Valente de Camargo

**Estudo clínico, histológico, imunoistoquímico e da função
lisossomal na miosite por corpos de inclusão**

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

Programa de Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Edmar Zanoteli

São Paulo

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Camargo, Leonardo Valente de
Estudo clínico, histológico, imunoistoquímico e da função lisossomal na miosite
por corpos de inclusão / Leonardo Valente de Camargo. -- São Paulo, 2016.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Neurologia.
Orientador: Edmar Zanoteli.

Descritores: 1.Miosite de corpos de inclusão 2.Miosite 3.Atrofia muscular
4.Inflamação 5.Agregados proteicos 6.Lisossomos 7.Imuno-histoquímica
8.Autofagia 9.Mitocôndrias musculares

USP/FM/DBD-085/16

Dedicatória

Esta tese é dedicada à minha família.

À minha esposa pelo companheirismo e compreensão que não sou um ser perfeito, aos meus pais e irmão por todo o amor e direcionamento no caminho da vida, e meus filhos pela força que dão em tudo que faço.

Agradecimentos

Aos pacientes e seus familiares, que permitiram o estudo de suas histórias e por compartilhar comigo o seu sofrimento, depositando a incondicional esperança de que outros desconhecidos também sejam beneficiados com o aumento do conhecimento na área médica.

Ao Prof. Dr. Edmar Zanoteli, meu orientador, pela oportunidade de realizar este projeto, pelos conhecimentos transmitidos e por sempre acreditar na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Acary Souza Bulle de Oliveira, colaborador direto deste estudo, pelos conhecimentos transmitidos, pela abertura das portas na UNIFESP e pelas sugestões que ajudaram a enriquecer este estudo.

À Dr^a. Mary Souza de Carvalho, pelo companheirismo, pela transmissão de conhecimento sem filtros, pela dedicação de toda uma vida no atendimento dos pacientes no Ambulatório de Miopatias do HC-FMUSP, amenizando de forma particular o sofrimento deles.

À companheira e sempre amiga, Thaís Freire Torres, biomédica, técnica do Lim 15 e auxiliar nas biópsias musculares, pela forte amizade construída ao longo de todos esses anos, pela alegria nas manhãs das segundas-feiras e sem a qual esse trabalho nunca teria saído do papel.

Aos colegas do Ambulatório de Miopatias HC-FMUSP, Osório Abath Neto, Cristiane de Araújo Martins, Marco Antonio Veloso de Albuquerque, Eduardo de Paula Estephan pela amizade e companheirismo nas manhãs das terças-feiras.

Às voluntárias do do Ambulatório de Miopatias HC-FMUSP, Dona Nair, Dona Alice e Dona Cida por todo o apoio e amizade durante todos esses anos.

Ao Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo, pela contribuição neste trabalho e por encaminhar parte dos pacientes deste estudo para análise.

Ao Prof. Dr. Ricardo Nitrini pelo auxílio em um momento tão crítico antecedendo a qualificação.

Ao Prof. Paulo Eurípedes Marchiori e à Prof^a. Dr^a. Suely Kazue Nagahashi Marie, por permitir minha admissão no HC-FMUSP, fato sem o qual tornaria esta tarefa impossível.

À Sra. Edna de Paulo, secretária do centro cirúrgico de pequenas cirurgias, assim como a todas as técnicas de enfermagem e enfermeiras, pela amizade e alegrias nos momentos compartilhados.

À Sra. Eliene Dutra Campos, técnica de laboratório do Lim 15, pelos ensinamentos e detalhes técnicos transmitidos na histologia e imunoistoquímica.

Às Prof^{as}. Dr^{as}. Renata Elaine Paraizo Leite e Dr^a. Camila Fernandes Nascimento, pela contribuição no fornecimento das alíquotas de anti-TDP43, sem a qual este trabalho não teria o impacto desejado.

Aos colegas e colaboradores do Lim 45, Sarah de Souza Gomes, Jessica Ruivo Maximino, Alan Fappi e Juliana de Carvalho Neves pelo companheirismo.

Ao Prof. Dr. Gerson Chadi pela cooperação.

Aos LIMs 15 e 45 pela disponibilização do espaço e uso dos equipamentos.

Aos membros da banca de qualificação, Prof^{as}. Dr^{as}. Umbertina Conti Reed , Prof^{as}. Dr^{as}. Anamarli Nucci e Prof^{as}. Dr^{as}. Helga Almeida da Silva, pelas sugestões para a melhora do trabalho.

À Sra. Thais Figueira, secretária da pós-graduação da neurologia, por toda a compreensão e auxílio em todas as fases deste projeto.

À minha família e amigos por toda compreensão da distância necessária durante esse trabalho e por mostrar-me que a amizade supera qualquer distância.

Epígrafe

I perdenti, come gli autodidatti, hanno sempre conoscenze più vaste dei vincenti, se vuoi vincere devi sapere una cosa sola e non perdere tempo a saperle tutte, il piacere dell'erudizione è riservato ai perdenti. Più cose uno sa, più le cose non gli sono andate per il verso giusto.

Numero Zero
Umberto Eco (1932-2016)

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*.

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS, TABELAS, QUADROS E ANEXOS

RESUMO

ABSTRACT

1	Introdução.....	18
2	Revisão bibliográfica.....	19
2.1	Miopatias inflamatórias.....	19
2.2	Miosite por corpos de inclusão (IBM).....	21
2.2.1	<i>Aspectos epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e terapêuticos.....</i>	<i>21</i>
2.2.2	<i>Etiopatogenia</i>	<i>26</i>
2.2.2.1	Acúmulo de proteínas	29
2.2.2.2	Alterações lisossomais	31
2.2.2.3	Estresse oxidativo, HSP e alterações mitocondriais	33
2.2.3	<i>Biópsia muscular.....</i>	<i>34</i>
2.2.4	<i>Critérios diagnósticos.....</i>	<i>36</i>
2.2.5	<i>Diagnósticos diferenciais.....</i>	<i>38</i>
3	Justificativa	39
4	Objetivos	40
4.1	Objetivo geral.....	40
4.2	Objetivos específicos.....	40
5	Casuística e metodologia.....	41
5.1	Casuística.....	41
5.2	Avaliação clínica	41
5.3	Exames subsidiários gerais	42
5.4	Biópsia muscular	42
5.4.1	<i>Reações histológicas e histoquímicas.....</i>	<i>43</i>
5.4.2	<i>Reações imunoistoquímicas.....</i>	<i>44</i>
6	Resultados	46
6.1	Avaliação clínica	46
6.2	Exames subsidiários.....	54
6.3	Biópsia muscular	58
6.3.1	<i>Análise histológica e histoquímica.....</i>	<i>58</i>
6.3.2	<i>Análise imunoistoquímica.....</i>	<i>63</i>
6.4	Comparação entre os principais critérios diagnósticos	70
7	Discussão	72
7.1	Considerações finais.....	80
8	Conclusões.....	81
9	Referências bibliográficas.....	82
10	Quadros	97
11	ANEXOS	101

LISTA DE ABREVIATURAS

+	grau leve
++	grau moderado
+++	grau acentuado
A	ausente
AAA	ATPases associadas a diversas atividades celulares
ABD	músculos abdominais
Alz50	do inglês <i>antibodie recognizing amino acids 5–15</i>
AM	amarela
APOE	apolipoproteína E
APP	do inglês <i>amyloid precursor protein</i>
ATPase	adenosina trifosfatase
AVD	atividades de vida diária
AZAT	azatioprina
B	branca
BBD	músculo bíceps braquial direito
BBE	músculo bíceps braquial esquerdo
COX	citocromo C oxidase
CK	creatinofosfoquinase
NT5c1A	do inglês <i>cytosolic 5'-Nucleotidase 1A</i>
DA	doença de Alzheimer
DAB	diaminobenzidina
DD	músculo deltóide direito
DE	músculo deltóide esquerdo
DIST	padrão distrófico
DLP	dislipidemia
DM	dermatomiosite
DN	data de nascimento
DNA	do inglês <i>deoxyribonucleic acid</i>
DNM	doença do neurônio motor
cDNA	do inglês <i>complementary deoxyribonucleic acid</i>
DP	doença de Parkinson
ECD	músculos extensores da coxa direita
ECE	músculos extensores da coxa esquerda
EDMD	músculos extensores dos dedos da mão direita
EDME	músculos extensores dos dedos da mão esquerda
EDPeD	músculos extensores dos dedos do pé direito
EDPeE	músculos extensores dos dedos do pé esquerdo
EDTA	do inglês <i>ethylenediamine tetraacetic acid</i>
ELA	esclerose lateral amiotrófica
ELISA	do inglês <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ENMC	do inglês <i>European Neuromuscular Center</i>
ENMG	eletroneuromiografia
EP	músculos extensores do pescoço
EPD	músculos extensores da perna direita
EPE	músculos extensores da perna esquerda
EPeD	músculos extensores do pé direito
EPeE	músculos extensores do pé esquerdo
EPuD	músculos extensores do punho direito

EPuE	músculos extensores do punho esquerdo
ERK	do inglês <i>extracellular signal-regulated kinases</i>
F	feminino
F4MM	fraqueza não caracterizada dos 4 membros
FAC	fosfatase ácida
FAI	fosfatase alcalina
FCD	músculos flexores da coxa direita
FCE	músculos flexores da coxa esquerda
FDMD	músculos flexores dos dedos da mão direita
FDME	músculos flexores dos dedos da mão esquerda
FDMI	fraqueza distal de um dos membros inferiores
FDMSS	fraqueza distal dos membros superiores
FDPeD	músculos flexores dos dedos do pé direito
FDPeE	músculos flexores dos dedos do pé esquerdo
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
FP	músculos flexores do pescoço
FPD	músculos flexores da perna direita
FPE	músculos flexores da perna esquerda
FPeD	músculos flexores do pé direito
FPeE	músculos flexores do pé esquerdo
FPMII	fraqueza proximal dos membros inferiores
FPMS	fraqueza proximal de um dos membros superiores
FPuD	músculos flexores do punho direito
FPuE	músculos flexores do punho esquerdo
GNE	do inglês <i>UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase gene</i>
GOM	tricômico de Gomori modificado por Engel e Cunningham
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HE	hematoxilina & eosina
HIBM	do inglês <i>hereditary inclusion body myositis</i>
HIV	do inglês <i>human immunodeficiency virus</i>
HSP	do inglês <i>heat shock protein</i>
HTLV-1	do inglês <i>human T cell leukaemia virus type 1</i>
IBM	do inglês <i>sporadic inclusion body myositis</i>
IBMcd	IBM clinicamente definitiva
IBMcpd	IBM clínico-patologicamente definitiva
IBMd	IBM definitiva
IBMpd	IBM patologicamente definitiva
IBMpo	IBM possível
IBMpr	IBM provável
IBMPFD	associação de HIBM, doença óssea de Paget e demência frontotemporal
Ig	imunoglobulina
IGIV	imunoglobulina humana endovenosa
IIE	infiltrado inflamatório endomisial
IIPERIM	infiltrado inflamatório perimisial
IIPERIV	infiltrado inflamatório perivascular
Lamp-1	do inglês <i>lysosomal-associated membrane protein 1</i>
LC3B	do inglês <i>microtubule-associated protein light chain 3</i>
LIM	Laboratório de Investigação Médica

LSN	limite superior da normalidade
M	masculino
MC1	do inglês <i>antibodie recognizing amino acids 312–322</i>
ME	microscopia eletrônica
MHC-I	do inglês <i>major histocompatibility complex class I</i>
MI	miopático inespecífico
MII	miopatias inflamatórias idiopáticas
MIP	músculo iliopsoas
MP	metilprednisolona
MQF	músculo quadríceps femoral
MRC	do inglês <i>Medical Research Council</i>
mRNA	do inglês <i>messenger ribonucleic acid</i>
mtDNA	do inglês <i>mitochondrial DNA</i>
mTOR	do inglês <i>mammalian target of rapamycin</i>
MTX	metotrexato
MuRF-1	do inglês <i>muscle RING-finger protein-1</i>
N	negra
NaCl	cloreto de sódio
NADH-TR	do inglês <i>nicotinamide adenine dinucleotide tetrazolium reductase</i>
Neu1	N-acetil- α -neuraminidase 1
Neu2	N-acetil- α -neuraminidase 2
Neu3	N-acetil- α -neuraminidase 3
Neu4	N-acetil- α -neuraminidase 4
NL	marcação normal
nNOS	do inglês <i>neuronal nitric oxide synthase</i>
NP	neuropatia periférica
NR	não realizado
NS	não sustentada
ORO	do inglês <i>oil red O</i>
P	presente
PAS	ácido periódico de Schiff
PCR	do inglês <i>polymerase chain reaction</i>
PFP	prova de função pulmonar
PHF	do inglês <i>paired-helical filaments</i>
PHF-1	do inglês <i>tau phos Ser396/Ser404 antibody</i>
PM	polimiosite
PP	perda ponderal
PRED	prednisona
PT	pulsoterapia
Ref-1	do inglês <i>redox factor-1</i>
RFU	do inglês <i>relative fluorescence units</i>
RNA	do inglês <i>ribonucleic acid</i>
RM	ressonância magnética
r.p.m.	rotações por minuto
RRF	do inglês <i>ragged red fibers</i>
RT-PCR	do inglês <i>reverse transcription polymerase chain reaction</i>
SD	sintomas depressivos
SDH	succinato desidrogenase
SDS-PAGE	do inglês <i>sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis</i>

TBD	músculo tríceps braquial direito
TBE	músculo tríceps braquial esquerdo
TBS	do inglês <i>tris-buffered saline</i>
TBS-T	do inglês <i>tris-buffered saline with Tween 20</i>
TC	tomografia computadorizada
TDP-43	do inglês <i>transactive response DNA binding protein 43 kDa</i>
TG3	do inglês <i>antibodie recognizing phosphorylated- Thr231</i>
TI	tempo de instalação
TNF	do inglês <i>tumor necrosis fator</i>
TOMM40	do inglês <i>ttranslocase of outer mitochondrial membrane 40</i>
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
UPS	do inglês <i>ubiquitin-proteasome system</i>
USG	ultrassonografia
VCP	do inglês <i>valosin-containing protein</i>
VLD	músculo vasto lateral direito
VLE	músculo vasto lateral esquerdo

LISTA DE FIGURAS, TABELAS, QUADROS E ANEXOS:

Figura 1: Fuxograma diagnóstico para IBM sugerido por Brady e cols (**Brady, 2014**).

Figura 2: Pacientes com IBM. Demonstração da atrofia muscular, o comprometimento motor da flexão das falanges distais e um caso com fraqueza abdominal.

Figura 3: Ressonância magnética muscular de um paciente com IBM (**caso 11**).

Figura 4: Achados histológicos do tecido muscular esquelético na IBM.

Figura 5: Achados histológicos do tecido muscular esquelético na IBM.

Figura 6: Achados histológicos do tecido muscular esquelético na IBM.

Figura 7: Achados imunoistoquímicos com marcadores inflamatórios na musculatura esquelética na IBM.

Figura 8: Achados imunoistoquímicos com marcadores inflamatórios na musculatura esquelética no controle (polimiosite).

Figura 9: Achados imunoistoquímicos utilizando anticorpos para marcação de autofagia e atividade degenerativa na musculatura esquelética na IBM.

Figura 10: Achados imunoistoquímicos utilizando anticorpos para marcação de autofagia e degeneração na musculatura esquelética em controle inflamatório (caso 22).

Figura 11: Achados histológicos e imunoistoquímicos (anticorpos para marcação de autofagia e degeneração) na musculatura esquelética na IBM.

Tabela 1: Anticorpos primários utilizados na imunoistoquímica no estudo.

Tabela 2: Identificação e dados da anamnese de 18 pacientes com IBM.

Tabela 3: Medicações utilizadas pelos pacientes com IBM, duração do tratamento, efeitos colaterais e alterações clínico-laboratoriais referentes ao tratamento.

Tabela 4: Comorbidades observadas em 18 pacientes com IBM.

Tabela 5: Avaliação da força muscular (MRC – *Medical Research Council*, 1981) em 18 pacientes com IBM.

Tabela 6: Escala de Rankin modificada (RmS) e índice de Barthel (IB) em 18 casos com IBM.

Tabela 7: Valores absolutos máximos e em relação ao LSN de CK em 18 casos com IBM.

Tabela 8 : Achados à ressonância magnética (RM) muscular em 4 casos com IBM.

Tabela 9: Dados gerais, histológicos, histoquímicos e acúmulo de amilóide (Vermelho-congo) das biópsias musculares em 18 casos com IBM e em controles.

Tabela 10: Achados imunoistoquímicos das biópsias musculares em 18 casos com IBM e em controles

Tabela 11: Análise comparativa entre os critérios diagnósticos mais utilizados em 18 pacientes com IBM.

Quadro 1: Critérios diagnósticos de Griggs para IBM - 1995.

Quadro 2: Critérios diagnósticos do *European Neuromuscular Centre (ENMC)* para IBM - 1997.

Quadro 3 : Critérios diagnósticos do Centro de Doenças Neuromusculares do *MRC* para IBM - 2008/2009.

Quadro 4: Critérios diagnósticos do *European Neuromuscular Centre (ENMC)* para IBM - 2011.

Quadro 5: Escala de Rankin modificada (RmS).

Quadro 6: Índice de Barthel (atividades de vida diária).

ANEXO 1: Documento comprobatório da aprovação pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do HC-FMUSP em **19/10/2011** (No Protocolo: **0740/11**).

ANEXO 2: Documento comprobatório da solicitação de inclusão do Setor de Investigação em Doenças Neuromusculares da UNIFESP/EPM como centro co-participante em 14/03/2014.

ANEXO 3: Documento comprobatório da aprovação da inclusão do Setor de Investigação em Doenças Neuromusculares da UNIFESP/EPM como centro co-participante em 27/02/2014.

Camargo LV. Estudo clínico, histológico, imunoistoquímico e da função lisossomal na miosite por corpos de inclusão [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

RESUMO

A miosite por corpos de inclusão (*inclusion body myositis* - IBM), na sua forma esporádica, é considerada a miopatia adquirida mais comum após os 50 anos de idade. Embora seja incluída no grupo das miopatias inflamatórias, estudos recentes mostram um processo particular de degeneração muscular caracterizado por deposição anormal de agregados de proteínas nas fibras musculares e funcionamento anormal dos principais sistemas de degradação proteica. O objetivo deste estudo foi o de avaliar os aspectos clínicos, histológicos e imunoistoquímicos de pacientes com IBM. Avaliamos 18 casos com diagnóstico de IBM de dois dos principais centros de doenças neuromusculares do Brasil (25 biópsias musculares). Na tentativa de diferenciar os casos de IBM das outras miopatias inflamatórias, determinamos o padrão de expressão tecidual da p-tau (p62), α -sinucleína e TDP-43. Também foi avaliada a função lisossomal através da reação da fosfatase ácida (marcação da atividade lisossomal global) e determinação da marcação para LC3B (marcador de autofagia). Foi observado que a IBM predominou no sexo masculino (61% dos casos), da cor branca, com início das manifestações clínicas ao redor dos 59 anos de idade e os sintomas mais frequentes foram fraqueza muscular, instabilidade postural com quedas da própria altura, disfagia e perda ponderal, podendo ainda apresentar dispneia. O diagnóstico demorou em média 7,4 anos após o início dos sintomas e frequentemente esteve associada às seguintes comorbidades: hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus tipo 2, osteopenia / osteoporose, dislipidemia e hiperuricemia / gota. O padrão de comprometimento muscular na IBM foi caracterizado por tetraparesia de predomínio proximal em membros inferiores e distal em membros superiores. Os valores séricos da creatinofosfoquinase em pelo menos uma das medições foram elevados em todos os pacientes, porém sem ultrapassar 10 vezes o limite superior da normalidade. O uso de imunossupressão não se mostrou eficaz nos pacientes com IBM. Os achados histológicos na IBM incluíram alterações distróficas variáveis com a presença de inflamação endomisial, assim como a ocorrência de vacúolos marginados, além da elevada frequência de alterações mitocondriais. Outros achados histológicos musculares característicos na IBM foram o aumento da atividade lisossomal (aumento global da marcação para fosfatase ácida), a presença de marcação positiva para beta-amilóide (marcação intra-vacuolar pelo vermelho-Congo), o aumento na degradação muscular (relacionada com ativação de LC3B, p-tau, e p62/SQSTM1) e a degeneração muscular (marcação para anti-*phospho* TDP-43 e para α -sinucleína). Tais alterações apresentaram alta sensibilidade e especificidade. Sugerimos que a redução do critério de idade do início dos sintomas de mais de 45 anos para mais de 35 anos aumentaria a sensibilidade diagnóstica para os casos com IBM deste estudo de 83% para 100%. Com este estudo, foi possível caracterizar clínica e histologicamente pacientes com IBM em nosso meio, e fornecer indícios do benefício do uso de marcadores de degeneração e autofagia para o diagnóstico e para a determinação de vias ou sistemas celulares envolvidos na patogênese da doença.

Descritores: miosite de corpos de inclusão; miosite, atrofia muscular; inflamação; agregados proteicos; lisossomos; imuno-histoquímica; autofagia; mitocôndrias musculares.

Camargo LV. Clinical, histological, immunohistochemical and lysosomal function study in inclusion body myositis [Thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2016.

ABSTRACT

Sporadic inclusion body myositis (sIBM) is considered the most common acquired myopathy affecting adults aged over 50 years. Although included in the group of inflammatory myopathies, recent studies show a particular process of muscle degeneration characterized by abnormal deposit of protein aggregates in muscle fibers and abnormal operation of the main protein degradation systems. The aim of this study was to evaluate the clinical, histological and immunohistochemical patients with IBM. We evaluated 18 cases with IBM diagnostic of two of the main centers of neuromuscular diseases in Brazil (25 muscle biopsies). In an attempt to differentiate the IBM cases of other inflammatory myopathies, we determined the pattern of tissue expression of p-tau (p62), α -synuclein and TDP-43. Also evaluated the lysosomal function by acid phosphatase reaction (marking global lysosomal activity) and determining the markup for LC3B (autophagy marker). It was observed that IBM was predominant in males (61% of cases), white colored, with onset of clinical manifestations around 59 years old and the most common symptoms are muscle weakness, postural instability with high falls, dysphagia and weight loss, and may also present dyspnea. The diagnosis took an average of 7.4 years after the onset of symptoms and was often associated with the following comorbidities: hypertension, type 2 diabetes mellitus, osteopenia / osteoporosis, dyslipidemia and hyperuricemia / gout. The muscular damage pattern at IBM was characterized by tetraparesis predominantly proximal lower limbs and distal upper limbs. Serum creatine kinase levels in at least one of the measurements were elevated in all patients, but not exceeding 10 times normal. Immunosuppression was not effective in patients with IBM. The IBM histological findings included diversify dystrophic changes, endomysial inflammation, as well as the occurrence of rimmed vacuoles, in addition to high frequency of mitochondrial changes. Other characteristic muscle histological findings in IBM were increased lysosomal activity (overall increase in labeling for acid phosphatase), the presence of positive staining for beta-amyloid (intra-vacuolar by Congo red marking), increased muscle degradation (related to activation of LC3B, p-tau and p62 / SQSTM1) and muscle degeneration (marking for anti-phospo TDP-43 and α -synuclein). Such changes have a high sensitivity and specificity. which makes these important complementary analyzes for accurate pathological diagnosis. We suggest that lowering the age of the onset of symptoms of greater than 45 years to older than 35 years would increase the diagnostic sensitivity for cases with IBM this study from 83% to 100%. With this study, it was possible to characterize clinically and histologically the patients with IBM in our centers, and provide evidence of the benefit of using degeneration and autophagy markers for diagnosis and for determining pathways or cellular systems involved in the pathogenesis of the disease.

Descriptors: myositis, inclusion body; myositis; muscular atrophy; inflammation, protein aggregates, lysosomes, immunohistochemistry; autophagy; mitochondria, muscle.

1 Introdução

A miosite por corpos de inclusão (*inclusion body myositis* - IBM), na sua forma esporádica, é considerada a miopatia adquirida mais comum após a quinta década de vida (Needham, 2008-a). Apesar de incluída no grupo das miopatias inflamatórias idiopáticas, apresenta etiopatogenia multifatorial ainda incerta, com um processo particular de degeneração muscular caracterizado por deposição anormal de agregados proteicos e funcionamento anormal dos principais sistemas de degradação proteica, justificando os recentes esforços concentrados na investigação das vias relacionadas com autofagia e degeneração muscular (Needham, 2008-c; Machado, 2013). Apesar do fenótipo típico desde o início dos sintomas, com fraqueza assimétrica dos músculos flexores dos dedos das mãos e dos extensores das pernas, a IBM é com frequência diagnosticada incorretamente como polimiosite (PM), submetendo o paciente a diversas terapias, sujeitos aos efeitos colaterais, sendo considerada somente após refratariedade ao tratamento (Benveniste 2011; Machado, 2013).

Na tentativa de minimizar falso-diagnósticos e ajudar na compreensão da etiopatogenia da IBM, seria de suma importância melhorar a caracterização histológica e determinar marcadores capazes de diferenciá-la das outras miopatias inflamatórias, assim como sugerir vias ou sistemas celulares envolvidos na sua fisiopatogenia. Este estudo visa avaliar o quadro clínico e as alterações histológicas musculares em pacientes com IBM no nosso meio. Adicionalmente, marcadores de autofagia e de neurodegeneração serão usados em fragmentos musculares de pacientes com IBM no sentido de detectar anormalidades imunoistoquímicas úteis na diferenciação da IBM de outras formas de miopatias inflamatórias.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Miopatias inflamatórias

As miopatias inflamatórias idiopáticas (MII) adquiridas formam um grupo heterogêneo que inclui a IBM, a PM, a dermatomiosite – juvenil ou do adulto – (DM), as síndromes de superposição, e a miopatia necrotizante (**Mastaglia, 2002**). As MII possuem prevalência estimada entre 3,5-35 por milhão de habitantes, com variação em relação aos países e grupos étnicos, embora diversos estudos sugerem ser um valor subestimado (**Catalán-García, 2015**). Já a taxa de incidência mundial das MII varia de 2-10 casos por um milhão de habitantes por ano (**Irazoque-Palazuelos, 2009; Dobloug, 2014**), sendo diretamente proporcional à idade da população avaliada, variando de 2,5 por milhão de habitantes abaixo dos 15 anos a 10,5 por milhão de habitante acima dos 65 anos (**Oddis, 1990**).

As MII são caracterizadas por diversos graus de fraqueza muscular proximal, pela elevação sérica da creatinofosfoquinase (CK), eletroneuromiografia (ENMG) de padrão miopático, geralmente com sinais de intensa atividade da doença, e infiltrado inflamatório mononuclear não-supurativo da musculatura esquelética (**Irazoque-Palazuelos, 2009; Mann, 2010; Tournadre, 2010**).

Os critérios tradicionalmente utilizados para definir e diagnosticar as miosites foram propostos em 1975 por Bohan e Peter (**Bohan, 1975-a; Bohan, 1975-b**), inicialmente incluíam a PM e DM, englobando mais tarde a IBM.

A PM e a DM apresentam predomínio no sexo feminino (2,5:1) quando comparado ao sexo masculino (**Mastaglia, 2002; Irazoque-Palazuelos, 2009**) e têm mecanismo patogênico primariamente autoimune, o que pode ser observado pela associação dessas miopatias com outras doenças autoimunes e pelas evidências imunohistológicas de miocitotoxicidade mediada por linfócitos T na PM e microangiopatia ativada pelo complemento na DM (**Dalakas, 2011-a**).

A PM é uma doença idiopática que apresenta picos de incidência bimodal aos 45 e 64 anos (**Oddis, 1990**). A PM é caracterizada por (1) fraqueza proximal simétrica dos membros e tronco, de evolução subaguda a crônica, (2) elevação sérica da CK e da aldolase, (3) achados miopáticos à ENMG e (4) histologia muscular com intenso processo de necrose/degeneração das fibras musculares, associado a infiltrado inflamatório mononuclear, com predomínio de

macrófagos e linfócitos T – principalmente no endomísio e ao redor dos vasos sanguíneos. Há também achados inespecíficos como fibras em regeneração, aumento de centralizações nucleares e variação do calibre das fibras musculares. A imunoistoquímica mostra predomínio de macrófagos nas regiões inflamatórias, mas também invasão parcial das fibras musculares não necróticas por linfócitos T citotóxicos (CD8+) e CD4. A presença de marcação aumentada nas superfícies das fibras musculares com anticorpos contra o complexo principal de histocompatibilidade classe I (major histocompatibility complex I – MHC-I) corrobora a presença de inflamação tecidual **(Dalakas, 2002; Khan, 2011)**.

A DM também apresenta picos de incidência bimodal, porém aos 5 e 14 anos **(Oddis, 1990)**, ocorrendo em crianças ou adultos. Predomina no sexo feminino, da mesma forma que a PM. Caracterizada pelos quatro itens supracitados da PM, associados a alterações cutâneas patognomônicas (pápulas de Gottron), muito típicas (heliotropo), típicas (sinal de Gottron, eritema macular violáceo, sinal do xale, sinal do “V”, eritemas lineares em áreas extensoras e “mãos de mecânico”), entre outras (telangectasias periungueais, distrofias cuticulares e eritema periungueal proeminente). As alterações cutâneas podem preceder a miosite em vários meses até mais de dois anos. O inverso é incomum. Histologicamente, as características típicas são a atrofia perifascicular, reação inflamatória perivascular e necrose capilar. Há também lesão microvascular com depósitos de complexos de ataque à membrana endotelial. A inflamação, não sempre significativa, ocorre predominantemente nas regiões perimisiais, ao redor dos vasos ou no interior dos fascículos, consistindo em linfócitos B e T (CD4+). A imunoistoquímica com anticorpos contra MHC-I mostra aumento da expressão em fibras musculares na periferia dos fascículos, corroborando com os achados de predomínio de inflamação perivascular **(Dalakas, 2002; Ortigosa, 2008; Khan, 2011)**.

Tanto a PM quanto a DM podem apresentar mialgia, logo no início do quadro, embora seja mais comum na DM **(Khan, 2011)**. Quando ocorre acometimento da musculatura apendicular distal no início da doença, outros transtornos neuromusculares devem ser investigados **(Dalakas, 1991; Khan, 2011)**.

A PM e a DM apresentam eventual envolvimento cardíaco (arritmia, anormalidades de condução, insuficiência cardíaca congestiva, miocardite, pericardite, fibrose secundária, angina e até parada cardíaca) e respiratório (hipoventilação, pneumonia aspirativa e doença pulmonar intersticial), além de manifestações sistêmicas de vasculite, incluindo alterações orofaríngeas, gastrintestinais, renais ou articulares (artralgia e artrite), que são reflexo da sobreposição da DM com outras doenças reumatológicas como esclerose sistêmica e doença

mista do tecido conjuntivo. Envolvimento cardíaco e respiratório está associado a um pior prognóstico (**Dankó, 2004; Khan, 2011**).

O tratamento da DM e PM envolve corticoterapia e outras formas de imunossupressão (azatioprina, metotrexate, ciclofosfamida, imunoglobulina), em geral com boa resposta, apesar dos casos refratários (**Brandão, 2011; Dalakas, 2012**).

2.2 Miosite por corpos de inclusão (IBM)

A IBM foi nomeada em 1971 por Yunis & Samaha. Entre 1967 e 1971 surgiram as primeiras evidências de inclusões túbulo-filamentosas à microscopia eletrônica em biópsias musculares de pacientes com diagnóstico de provável PM, diferenciando estes casos das outras formas de miopatias inflamatórias (**Carpenter, 1970; Yunis, 1971; Chou 1986**).

2.2.1 Aspectos epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e terapêuticos

Embora a IBM ainda seja considerada uma doença rara (ORPHA611) pelo provável fato de ser subdiagnosticada, é considerada por muitos a doença muscular adquirida mais comum após os 50 anos de idade (**Oddis, 1990; Engel, 2006; Needham, 2008-a; Solorzano, 2011; Catalán-García, 2015**), com uma prevalência nesta faixa etária estimada de 3,5/100.000 habitantes. Apresenta predomínio no sexo masculino (2:1 a 3:1), quando comparado ao sexo feminino (**Phillips, 2000; Mastaglia, 2002**). Considerando que 18-20% dos pacientes desenvolvam os sintomas antes dos 60 anos de idade, é importante considerar o diagnóstico de IBM em todo paciente com sintomas compatíveis a partir dos 30 anos (**Lotz 1989; Badrising, 2005**). A IBM é considerada rara em negros americanos e não-caucasianos (**Dimachkie, 2013**).

Recentemente uma série epidemiológica de pacientes com IBM foi descrita no Brasil com avaliação clínica e retrospectiva dos dados presentes nos prontuários dos casos (**Alverne, 2013**). Dentre os achados deste estudo observou-se a ausência de predomínio entre os sexos e com tempo médio muito curto entre o início dos sintomas e o diagnóstico de IBM, além da estabilidade clínico-laboratorial de quase metade dos pacientes com o uso de corticosteroides e/ou imunossupressores (**Alverne, 2013**). Outros estudos brasileiros envolvendo a IBM incluem o estudo de **Scola e cols (1996)** que avaliou 16 casos com biópsias musculares contendo corpos de inclusão citoplasmáticos, dos quais apenas 25% tratavam-se de IBM, o

recente relato de caso mostrando a dificuldade diagnóstica na doença (Correia, 2014) e relato de caso com a coexistência de IBM e infecção pelo HIV (Freitas, 2008).

A maioria dos casos é de ocorrência esporádica. A forma hereditária da IBM (HIBM), não incluída neste estudo, é extremamente rara, sendo um transtorno degenerativo do músculo esquelético com herança autossômica recessiva, de início juvenil, predomínio distal e que tipicamente poupa o músculo quadríceps femoral. É causada na maioria das vezes por uma mutações no gene *GNE* (*locus* 9p13.2) a qual é responsável pela codificação da enzima bifuncional UDP-N-acetilglucosamina-2-epimerase/N-acetil-manosamina quinase. Tal enzima tem papel importante na regulação e no início da síntese do ácido N-acetilneuramínico, precursor dos ácidos siálicos, relacionados à aderência celular, transdução de sinal e ao comportamento das lesões neoplásicas primárias ou secundárias. As mutações no gene *GNE* levam a uma heterogeneidade alélica, porém com um fenótipo comum, considerando a HIBM, a miopatia de Nonaka e a miopatia distal com vacúolos marginados a mesma entidade genética, ou seja, miopatias relacionadas ao *GNE* (Keppler, 1999; Sparks, 2005; Grandis, 2010; Weihl, 2011; No, 2013). Diversas mutações no gene que codificam as proteínas que contêm valosina (VCP ou p97), um membro da família AAA (ATPases associadas a diversas atividades celulares), que possuem dentre as principais funções a fusão de membrana, degradação proteica e reparo no DNA, podem levar a uma doença hereditária autossômica dominante que pode acometer diversos órgãos, levando a uma associação de HIBM, doença óssea de Paget e demência frontotemporal (IBMPFD) (Peyer, 2013; Surampalli, 2015; Song, 2015; Wang, 2015).

A IBM apresenta evolução lentamente progressiva, com a fraqueza predominando nas porções proximais dos membros inferiores [músculos quadríceps femoral (MQF) e íliopsoas (MIP), e posteriormente dorsiflexores do tornozelo] e distais dos membros superiores (músculos do antebraço, principalmente o flexor profundo dos dedos), podendo apresentar hiporreflexia miotática (principalmente patelar). A fraqueza é muitas vezes assimétrica, sendo comum, com a evolução da doença, a atrofia do músculo quadríceps femoral e da musculatura flexora dos punhos e dos dedos das mãos. Alguns pacientes apresentam fadiga e intolerância ao exercício, mas em geral, os músculos respiratórios são poupados. Disfagia tende a ocorrer em 40 a 60% dos pacientes, podendo ser o sintoma inicial, muitas vezes não valorizada ou não referida, sendo associada a um pior prognóstico. Fraqueza dos músculos paravertebrais cervicais e do pescoço podem ser notadas no início do quadro. Fraqueza dos músculos faciais acomete aproximadamente 1/3 dos casos. Alguns achados ao exame neurológico são fortes

indicadores de IBM. Por exemplo, a flexão do punho e dedos tende a ser mais comprometida do que a extensão (aperto de mão fraco), e a extensão do joelho é mais afetada em comparação com a flexão do quadril (**Tawil, 2002; Dalakas, 2006; Engel, 2006; Needham, 2007; Amato, 2009**).

O acometimento da musculatura flexora da coxa e extensora da perna, ou seja MQFs e MIPs, leva a quedas frequentes e o acometimento da musculatura flexora dos dedos das mãos pode interferir substancialmente nas atividades de vida diária (AVDs). Muitos pacientes necessitam de métodos auxiliares para a locomoção durante o curso da doença, e apenas alguns evoluem com intensa incapacidade das AVDs (**Brady, 2013**).

Em alguns casos de IBM pode haver associação com diabetes mellitus (20%), doenças autoimunes (13-15%) e neuropatia periférica (18%) (**Lotz, 1989; Koffman, 1998**).

O valor sérico da CK encontra-se normal ou pouco elevado, geralmente menor que 12 vezes o limite superior (**Griggs, 1995**). Autoanticorpos associados às miosites geralmente não estão presentes na IBM (**Koffman, 1998**).

Em 2013, foi descrito o primeiro possível biomarcador sérico da IBM, um autoanticorpo – imunoglobulina (Ig) G – chamado *cytosolic 5'-Nucleotidase 1A* (NT5c1A). Tal anticorpo foi detectado inicialmente em cerca de 33% dos pacientes com IBM e com baixa prevalência na polimiosite (4,5 a 5%), dermatomiosite (4,2 a 15%) e em outras doenças neuromusculares (3,2%). Acreditava-se estar ausente em indivíduos saudáveis e assintomáticos, até recentemente serem demonstrados em dois indivíduos assintomáticos (**Hengstman, 2005; Pluk, 2013; Lloyd, 2016**). Em 2014, foram detectados os três isotipos por ELISA (IgG, IgM e IgA), o que melhorou a especificidade (94 a 96%) e a sensibilidade (aumento de 33% para 76%) (**Greenberg, 2014**). Tais autoanticorpos também são frequentemente encontrados na síndrome de Sjögren (20-36%) e no lúpus eritematoso sistêmico (14-20%), porém sem relação com doença muscular nestes casos (**Herbert, 2015; Lloyd, 2016**). Embora uma pequena amostra avaliada de pacientes, descreveu-se maior severidade do comprometimento motor, assim como uma sugestão de maior envolvimento bulbar e respiratório, nos pacientes com positividade sérica de NT5c1A (**Goyal, 2015**). Uma coorte recente com amostra limitada, na qual 70% dos pacientes foram submetidos a terapia imunossupressora, evidenciou baixa frequência sérica de NT5c1A em portadores de IBM, mostrando uma outra possível limitação do método. Os autores também concluíram não haver relação com o sexo e malignidade (**Limaye, 2015**).

A ENMG geralmente apresenta um padrão típico de miopatia inflamatória, com

potenciais polifásicos à contração leve, potencial de interferência paradoxal à contração máxima e intensa atividade em repouso caracterizada por fibrilações (**Griggs, 1995**). A obtenção de potenciais de unidade motora com amplitude aumentada e de longa duração, pode frequentemente levar ao diagnóstico incorreto de esclerose lateral amiotrófica (ELA), eventualmente sendo necessária a análise através do método quantitativo (**Hokkoku, 2012**). Não é infrequente o achado de neuropatia periférica sensitivo-motora, porém eventualmente associada a outras condições da senilidade, como diabetes mellitus (**Brannagan, 1997**). Em casos com suspeita de IBM e queixas sensitivas é importante a avaliação neurofisiológica e com neuroimagem para auxiliar no diagnóstico diferencial (**França, 2007**).

Estudos envolvendo exames de imagem nas miopatias estão cada vez mais frequentes na literatura, não somente para guiar o exame de biópsia muscular, mas também buscando auxiliar no diagnóstico diferencial, diagnóstico precoce e acompanhamento. Dentre eles o mais frequente é a ressonância magnética (RM), mas também a espectroscopia por RM, tomografia computadorizada (TC), tomografia por emissão de pósitrons e ultrassonografia. No entanto, estudos prospectivos são necessários para adicioná-los aos critérios diagnósticos (**Schiffenbauer, 2014; Tasca, 2015; Nodera, 2015; Caliandro, 2015; Morrow, 2016**).

Não existe um tratamento medicamentoso eficaz descrito até o presente para a IBM, sendo classificada como refratária à terapêutica convencional tradicionalmente usada para as outras miopatias inflamatórias. O consenso é de que os esteróides e a terapia imunossupressora convencional não são benéficos clinicamente, exceto em casos isolados, mesmo reduzindo os valores séricos de CK e reduzindo a quantidade de fibras musculares em necrose nas biópsias (**Barohn, 1995**). Apesar de estudos recentes mostrarem que a infusão de imunoglobulina humana endovenosa (IGIV) possa apresentar apenas um benefício inicial transitório, ou ainda nenhum efeito na evolução da doença (**Dobloug, 2012; Breithaupt, 2013; Cherin, 2015**), e que infusões de alemtuzumab (anticorpo monoclonal IgG1 kappa humanizado – anti-CD52) diminuíram a velocidade de progressão da doença por até 6 meses, melhorando a força em alguns pacientes (**Dalakas, 2009**), outros estudos e uma recente revisão com metodologia da Biblioteca Cochrane, demonstraram que, não só a IGIV e o alemtuzumab, mas outras drogas / medicamentos também têm sua eficácia questionada, assim como, interferon- β -1a em doses normais ou elevadas, a globulina antitímocítica, o Etanercept (receptor do fator de necrose tumoral – TNF – humano), e a oxandrolona (agonista de receptor andrógeno), sendo que esta última apresentou resultado favorável, porém questionável, em apenas um pequeno estudo (**Rutkove, 2002; Dimachkie, 2011; Schmidt,**

2013; Saltychev, 2015). Estudo piloto com evidência Classe I evidenciou aumento do volume muscular nas coxas e melhora funcional com a administração de bimagrumab a pacientes com IBM (**Amato, 2014**).

Pacientes acima de 50 anos com diagnóstico de PM, fenótipo sugestivo ou não de IBM e sem resposta ao tratamento imunossupressor, provavelmente apresentam IBM. Sem tratamento medicamentoso eficaz até o presente, o papel da equipe multidisciplinar (fisioterapia, terapia ocupacional, gastrostomia, órteses, orientações nutricionais e atividade física adequada) e de otimização da função é essencial. A evolução da doença tende a ser insidiosa, mas aqueles que desenvolvem sintomas em idade mais avançada tendem a progredir mais rapidamente e apresentam um pior prognóstico (**Arnardottir, 2003; Johnson, 2009; Dimachkie, 2011**). Recente publicação com objetivo descritivo epidemiológico destaca que cerca de 10% dos pacientes apresentam infecções virais crônicas e em torno de 13% foram diagnosticadas neoplasias (**Mont'Alverne, 2013**).

2.2.2 Etiopatogenia

Apesar de incluída no grupo supracitado de miopatias inflamatórias idiopáticas imunomediadas (**Mastaglia, 2002**), a IBM apresenta etiopatogenia complexa e multifatorial ainda incerta, com diversas teorias propostas, incluindo infecção viral, acúmulo de proteínas tóxicas, autoimune, degeneração mionuclear, estresse de retículo endoplasmático, comprometimento da autofagia e proteólise proteassomal. Apresenta um processo particular de degeneração muscular caracterizado por deposição anormal de agregados proteicos e funcionamento anormal dos principais sistemas de degradação proteica: ubiquitina-proteasomal e via autofágica (**Needham, 2007; Needham, 2008-b; Needham, 2008-c; Askanas, 2011; Machado, 2013**).

Estudos recentes sugerem uma etiologia degenerativa com deposição anormal de agregados proteicos, formados por proteínas precursoras de amilóide (APP), β -amilóide 42, tau fosforilada (p-tau), α -sinucleína, α - β -cristalina, clusterina, presenilina-1, gelsolina, apolipoproteína E (APOE), γ -tubulina e inúmeras proteínas relacionadas ao estresse oxidativo e celular, dentre elas as proteínas de choque térmico (*heat shock protein* – HSP) (**Dalakas, 2010**). Assim, na biópsia muscular dos pacientes com IBM há uma combinação de degeneração multifocal das fibras musculares, associada a inflamação extracelular mediada por células T. A degeneração muscular na IBM é caracterizada por (I) vacuolização e atrofia, e (II) acúmulo intramuscular, principalmente no citoplasma não-vacuolizado, de proteínas ubiquitinadas e agregados de multiproteínas com aspecto congofílico (**Nogalska, 2011**). Em recente publicação do *Muscle Study Group* e do *International IBM Genetics Consortium*, o qual recebeu colaboração do nosso serviço, 158 amostras de casos de IBM foram avaliadas e nenhuma associação significativa foi encontrada entre os genótipos da APOE e da “translocase de membrana mitocondrial externa 40” (TOMM40), e o risco de desenvolver IBM, porém demonstrou-se que a presença de pelo menos 1 alelo com repetição muito longa poliT foi significativamente associada com uma demora de cerca de 4 anos para início dos sintomas na IBM, tendo um efeito modificador na evolução da doença (**Gang, 2015**).

Interessantemente, há muitas similaridades entre as alterações degenerativas que ocorrem na IBM com as que ocorrem nas doenças de Alzheimer e de Parkinson. Tais anormalidades incluem: acúmulo anormal de muitas das mesmas proteínas patogênicas, com modificações pós-translacionais similares, incluindo inibição dos sistemas proteassomo 26S e autofágico (degradação lisossomal defeituosa). A inibição destes dois sistemas contribui para

a formação de agregados de proteínas (não degradadas), acúmulo de amilóide, e vacuolização citoplasmática. Acúmulos anormais de inclusões congofílicas com proteínas ubiquitinadas, são característicos tanto da IBM quanto das doenças de Alzheimer (DA) e de Parkinson (DP). São anormalidades conhecidas como conformacionais, causadas por deficiência no sistema ubiquitina-proteasomo, e levando a falhas conformacionais de proteínas e associação com a gênese de inclusões multiproteicas (**Askanas, 2011; Nogalska, 2011**).

Ainda não se sabe, por exemplo, como os componentes básicos da histopatologia, ou seja, degeneração de fibras musculares e inflamação por células mononucleares relacionam-se com a patogênese. Segundo **Askanas** e colaboradores (**2011**), o componente de degeneração intramuscular é o mecanismo principal que leva à destruição muscular e fraqueza observada clinicamente. Esse pode ser um dos motivos pelos quais a IBM tem caracteristicamente pobre resposta ao tratamento imunossupressor, em contraste com as outras miopatias inflamatórias. O mesmo autor chama a atenção para as semelhanças estruturais entre as alterações histológicas nas fibras musculares e do tecido cerebral de pacientes com DA e DP, como o acúmulo de proteínas β -amilóide, p-tau e α -sinucleína, levantando a hipótese de que o envelhecimento do meio intracelular possa ter um mecanismo comum nessas patologias. Um dos mecanismos propostos para o surgimento dos acúmulos proteicos, que podem ocorrer com o envelhecimento, é o mau funcionamento dos sistemas de degradação proteica: ubiquitina-proteasomal e via autofágica (**Askanas, 2011**).

As células possuem normalmente mecanismos capazes de identificar, corrigir ou mesmo remover organelas e proteínas estruturalmente anormais ou mau-funcionantes. Dentre estes mecanismos há também o controle da transcrição gênica, impedindo que haja aumento ou redução excessiva na síntese de proteínas. Para eliminar proteínas com defeitos de conformação as células utilizam diferentes mecanismos: (I) correção da conformação de proteínas através do sistema retículo endoplasmático/chaperonas ou de HSP; (II) degradação de proteínas através do sistema ubiquitina-proteasomo (UPS) ou através de autofagia. Quando algum destes sistemas de controle de qualidade é alterado, como ocorre no envelhecimento, podem ocorrer acúmulo e formação de agregados de proteínas anormais e organelas danificadas (**Dalakas, 2010; Greenberg, 2010; Dalakas, 2011-a; Dalakas, 2011-b**).

Nas fibras musculares na IBM proteínas anormais acumuladas podem ser resultantes de aumento da sua produção e/ou inadequada degradação. Agregados de proteínas anormais são causados pela ligação de polipeptídeos com defeitos de conformação induzida pela interação entre suas porções hidrofóbicas inapropriadamente expostas. Depósitos amilóides

insolúveis completamente formados podem não ser citotóxicos, mas seus oligômeros pré-amilóides são considerados extremamente tóxicos (**Glabe, 2006**).

Algum fator exógeno (viral ou não) acarretaria algum insulto muscular em indivíduos idosos susceptíveis. Tal insulto resultaria em degeneração nuclear com desregulação da expressão de diversas proteínas produzindo acúmulo de proteínas tóxicas e reação inflamatória secundária. Há vários argumentos a favor de que o processo inflamatório na IBM ocorre secundariamente às alterações conformacionais proteicas. Por exemplo, o aumento da expressão de um gene mutado que codifica a proteína gelsolina em camundongos acarreta a formação de agregados intracitoplasmáticos nas fibras musculares, inclusive β -amilóide, associada a reação inflamatória linfocitária perivascular e endomisial (**Page, 2009**). Além do mais, como já salientado anteriormente, o tratamento com imunossupressão dos pacientes com IBM não tem se mostrado efetivo.

A inflamação está associada com os agregados proteicos na IBM, mas as vias envolvidas ainda não estão elucidadas. Uma evidência desta relação é o aumento da expressão de mRNA para HMGB1 e RAGE em tecidos musculares de pacientes com IBM e PM, mas não na distrofia muscular ou controles não-miopáticos. Após a resposta inflamatória inicial de citocinas, as células imunes, incluindo macrófagos e neutrófilos, liberam mediadores subsequentes, como a alta mobilidade de grupo caixa 1 (HMGB1), sendo esta regulada positivamente na inflamação muscular, e seu receptor RAGE, crucial para a degeneração associada ao acúmulo de β -amilóide e neurofilamento/tau, com potência similar à $IL-1\beta$ + $IFN-\gamma$ em causar acúmulo de β -amilóide e morte celular. Tal descoberta sugere que esta é uma via importante na fisiopatologia da IBM (**Muth, 2015**).

Em 2015, através da identificação de autoanticorpos séricos, como o NT5c1A, que componente autoimune relacionado à IBM. Tal anticorpo apresenta elevada expressão no tecido muscular esquelético e está envolvido em diversos processos celulares, incluindo controle fisiológico do balanço energético, regulação metabólica e replicação celular, catalisando a hidrólise da adenosina monofostato em adenosina e fosfato orgânico (**Herbert, 2015**).

2.2.2.1 Acúmulo de proteínas

Na IBM, grandes agregados proteicos ocorrem principalmente na forma de inclusões no formato de placas ou puntiformes, ou lineares (tortuosos), todos os quais, contém proteínas acumuladas. Inclusões no formato de placas e puntiformes contêm usualmente proteínas precursoras de β -amilóide (A β PP), A β 40 e A β 42, e proteínas participantes da proteólise da A β PP tais como β -secretases (BACE1 e BACE2) e complexo γ -secretase que contém presenelina-1 (PS1) e nicastrina. Os achados musculares na IBM estão relacionados aos encontrados no cérebro na DA, assim como, o acúmulo intra citoplasmático muscular de β -amilóide e seus oligômeros, e as grandes inclusões lineares-tortuosas com grupos de filamentos helicoidais emparelhados (PHF) que são imunorreativos a diversos anticorpos dirigidos contra vários epítomos de p-tau, onde co-localizam com a p62 (**Askanas, 2008, Nogalska, 2010; Terracciano, 2010; Nogalska, 2011**). Recente avanço na determinação das vias envolvidas na patogênese da IBM foi descrita por **Nogalska e cols (2011)**. Tal estudo demonstrou através de marcação com p62 que a proteína tau com alteração conformacional era abundante nas fibras musculares não-atróficas, sugerindo que ela possa desempenhar um papel no início da formação de PHF na IBM (**Nogalska, 2011**).

Outras proteínas que se acumulam nestes agregados incluem α -sinucleína e “príon” (também proteínas marcadoras de estresse oxidativo), retículo endoplasmático-chaperonas, UPS, p62, TDP-43, proteínas marcadoras de autofagia (dentre elas a LC3), ubiquitina, entre outras (**Nogalska, 2010; Terracciano, 2010**). Recentemente, foram identificados valores plasmáticos elevados de BACE-1, PS-1 e A β PP em pacientes com IBM, sugerindo uma alternativa diagnóstica em comparação com outras miopatias inflamatórias (**Catalán-García, 2015**).

A proteína p62, utilizada para expressão tecidual de p-tau, também conhecida como sequestosome 1, é uma proteína multifuncional que se liga à ubiquitina e regula a ativação da via de sinalização do fator nuclear kappa-B (NF-kB). Mutações no gene codificador da proteína pode levar à doença de Paget esporádica ou familiar. Comumente encontrada em inclusões com agregados proteicos poliubiquitinados, presentes em diversas doenças degenerativas, sugerindo falha no mecanismo de macroautofagia, principal via de degradação em massa dos componentes citoplasmáticos e organelas. Estas porções do citoplasma são sequestradas em vesículas com dupla membrana, chamadas de autofagossomos, sendo então

levados ao lisossomo para degradação e reciclagem. As principais funções da autofagia são: 1-) Mecanismo importante para a renovação dos componentes celulares durante o jejum e 2-) essencial para a diferenciação celular, morte celular e envelhecimento. Defeitos na autofagia podem levar ao surgimento de neoplasias, doenças degenerativas, doenças musculares e infecções. Os genes *ATG16* (*ATG16L1*) são necessários para a formação do autofagossomo. Nos seres humanos, dois sistemas de conjugação similar ao da ubiquitinação estão envolvidos na formação do autofagossomo: Atg12 e Atg8, onde o melhor homólogo do Atg8 é o LC3, responsável por recrutar p62 para os autofagossomos. A p62 é capaz de polimerizar-se por meio de seu domínio N-terminal PB1 e de interagir com proteínas poliubiquitinadas através do seu domínio C-terminal UBA, sendo responsabilizada pela ligação entre os agregados proteicos e o mecanismo autofágico (**Bjørkøy, 2005; Bjørkøy, 2006; Pankiv, 2007; Ralston, 2008; Shvets, 2008**). A inibição da proteína cinase alvo da rapamicina em mamíferos (*mammalian target of rapamycin*, mTOR) induz autofagia. Há marcação para a mTOR em amostras musculares de pacientes com PM, estando ausentes nas amostras dos portadores de IBM (**Panaite, 2015**), assim como a disfunção da mTOR contribui para a vacuolização e fraqueza na IBMPFD (**Ching, 2013**).

Uma ribonucleoproteína nuclear heterogênea, chamada TDP-43, foi identificada nas inclusões ubiquitina-positivas e tau-negativas, observadas em casos de demência frontotemporal, ELA e IBM, sendo importante no auxílio do diagnóstico patológico das doenças degenerativas (**Inukai, 2008; Hiniker, 2013**).

As sinucleínas, uma “super” família de proteínas pré-sinápticas solúveis – abundantes nos neurônios (α , β e γ), apresentam papel na função sináptica e plasticidade neural. A α -sinucleína apresenta expressão primária no cérebro, porém em níveis menores em todos os tecidos. Originalmente isolada das placas localizadas no cérebro na doença de Alzheimer, pode agregar-se às fibrilas e induzir agregação de peptídeo β -amilóide. É muito abundante nos terminais pré-sinápticos e um componente importante dos corpos de Lewy (CL), sendo também encontradas em diversas doenças neurodegenerativas, incluindo uma variante da DA com abundantes CL neocorticais, chamada de variante com CL da DA, assim como na doença difusa com CL e na DP. Mutações de ponto patogênicas no gene da α -sinucleína são ligadas à DP familiar. CL também são descritos na DA familiar, causados pela mutação nos genes da preselina e proteína precursora da amilóide e na síndrome de Down (**Polymeropoulos, 1997; Lippa, 1998; Masliah, 2000; Abeliovich, 2000**).

Os mecanismos pelos quais ocorre aumento da expressão gênica para estas proteínas ainda não estão esclarecidos. No entanto, no caso da A β PP, isto ocorreria devido ao aumento da atividade do complexo transcripcional AP-1 (c-Jun e c-Fos), da proteína quinase C, e da ERK (Extracellular signal-regulated kinases) (Wilczynski, 2000).

Ao lado do aumento da expressão gênica, há evidências de comprometimento do processamento destas proteínas, o qual acarretaria o acúmulo de derivados tóxicos. Os peptídeos A β 40 e A β 42 estão entre os gerados por duas proteases chamadas de β - e γ -secretases, que clivam a β -amilóide em sítios n-terminal e c-terminal, respectivamente. Atividade de β -secretase tem sido identificada com as proteínas transmembranas glicosiladas BACE1 e BACE2, enquanto que a atividade da γ -secretase tem sido identificada com nicastrina e presenelinas (PS1 e PS2). Na IBM, as proteínas BACE1 e BACE2 são encontradas nas inclusões co-localizando com β -amilóide e co-imunoprecipitando com A β PP. Nicastrina, PS1 e PS2 são também detectadas na IBM e associadas com a β -amilóide. Cistatina-C, uma protease cisteína endógena, que também contribui para o acúmulo da β -amilóide, é também detectada nas fibras musculares na IBM (Nogalska, 2010; Terracciano, 2010).

2.2.2.2 Alterações lisossomais

Algumas catepsinas, especificamente as L, B e D, encontram-se aumentadas no músculo esquelético em condições diversas de atrofia muscular, tais como aquelas induzidas por septicemia, tratamento com corticosteróides, neoplasia/malignidade, inatividade/desuso e privação alimentar/desnutrição (Bechet, 2005). A catepsina L é a que aparentemente apresenta-se mais ativada em todos estes processos. Diferentemente, na IBM, apesar da importante atrofia muscular em associação com processo inflamatório, estudos mostram redução da atividade das catepsinas, o que seria reflexo de uma inibição global da atividade lisossomal.

Um importante processo de degradação lisossomal envolvido em certas condições fisiológicas e patológicas de atrofia muscular é a autofagia. Autofagia é a formação de vesículas, com o auxílio do retículo endoplasmático, capazes de englobar organelas envelhecidas formando o chamado autofagossomo. Este por sua vez, funde-se com

endossomos e lisossomos recebendo enzimas hidrolíticas e culminando com a degradação enzimática dos seus constituintes. Este processo é especialmente importante para o suprimento das células em situações de privação alimentar. Durante a ativação da autofagia, a LC3-I (forma citosólica da proteína-1 de cadeia leve-3 associada aos microtúbulos) que sofre clivagem C-terminal, quando um sinal pró-autofágico é percebido pela célula e é conjugada com fosfatidiletanolamina para formar LC3-II, a qual é recrutada para as membranas dos autofagossomos. Esta conversão da LC3 pode ser usada para monitorar a atividade autofágica e a formação de autofagossomos. Durante a fusão dos autofagossomos com os lisossomos a LC3-II é degradado pelas hidrolases. Immunoblotting da LC3 revela duas bandas: LC3-I (18 kDa) e LC3-II (16 kDa); assim, a detecção da LC3 por métodos imunoistoquímicos e immunoblotting é extremamente confiável para monitorar o processo de formação de autofagossomos e de autofagia. Existem três isoformas humanas de LC3 (LC3A, LC3B e LC3C), que sofrem modificações pós-translacionais durante a autofagia. Na imunoistoquímica, a utilização de LC3B detecta os níveis endógenos de proteína total LC3B, principalmente da forma LC3B tipo II, porém a reação cruzada pode existir com as outras isoformas LC3 (**Kabeya, 2000; Wu, 2006**).

A importância do lisossomo na regulação da autofagia pode ser constatada pelo fato de que a deficiência isolada de diversas proteínas lisossomais resulta em doenças musculares nos humanos, associadas a transtornos autofágicos. As miopatias autofágicas vacuolares compõem um grupo de miopatias raras de origem lisossomal caracterizadas pela formação de vacúolos autofágicos no tecido muscular, sendo as mais comuns, as deficiências da α -glucosidase (doença de Pompe), proteína lisossomal de membrana Lamp-2 (doença de Danon) e as formas ligadas ao cromossomo X (**Nishino, 2006**). Devemos destacar que o sistema lisossomal e a autofagia estão ativados durante o processo de atrofia muscular (**Mizushima, 2004**). Estudos em cultura de células musculares demonstram que o sistema lisossomal/autofagia é a principal via proteolítica ativada implicada na privação alimentar (**Sandri, 2008**). Autofagia também é ativada na atrofia muscular induzida por desnervação (**Furuno, 1990**).

2.2.2.3 Estresse oxidativo, HSP e alterações mitocondriais

Óxido nítrico sintetase neuronal (nNOS), óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) e nitrotirosina estão anormalmente acumuladas nas fibras vacuolizadas da IBM, não ocorrendo em outras formas de miopatias inflamatórias (**Yang, 1997**). O estresse oxidativo afeta a fosforilação da tau, e provavelmente danifica outras proteínas alterando a função muscular. A superóxido dismutase 1 (SOD1) também é encontrada com expressão aumentada nas fibras vacuolizadas da IBM, o que representaria uma tentativa de reduzir os efeitos do estresse oxidativo. Estresse oxidativo aumenta a ativação do *redox factor 1* (Ref-1) o que por sua vez aumentaria a transcrição do A β PP. Proteínas acumuladas nos agregados usualmente apresentam dano oxidativo, o qual pode ter sido a causa de sua incorporação ao agregado (**Askanas, 1996**).

Há aumento da expressão de pequenas HSP, tais como α B-cristalina na IBM. Entretanto, isto ocorre também em outras formas de degeneração muscular, mas na IBM, caracteristicamente, tal aumento da expressão ocorre também nas fibras musculares aparentemente normais podendo corresponder a um efeito precoce da doença (**Banwell, 2000**).

O interesse no estudo das mitocôndrias cresce exponencialmente desde a década de 80, quando as primeiras mutações do DNA mitocondrial (mtDNA) foram identificadas como causadoras de doenças neuromusculares em humanos (**Holt, 1988**). A transmissão desses mtDNAs mutantes ao longo da linha germinal materna, ação nos tecidos durante o desenvolvimento embrionário e durante o envelhecimento do indivíduo, podem desenvolver diversas doenças, principalmente por alterações da homeostase mitocondrial, incluindo a manutenção da dinâmica mitocondrial (divisão / fusão) e da massa mitocondrial (biogênese / mitofagia) (**Carelli, 2015**). Equilíbrio entre divisão (fissão) e fusão está intimamente relacionado com o ajuste homeostático da massa mitocondrial e consequentemente para a homeostase tecidual e celular (**Mishra, 2014**). A perda desse equilíbrio está intimamente relacionada à regulação da apoptose com potencial de gerar severas consequências ao tecido. A manutenção da homeostase mitocondrial é determinada pela relação entre a biogênese mitocondrial, responsável por novas organelas, e à eliminação por autofagia das mitocôndrias danificadas, também conhecida com mitofagia (**Carelli, 2015**). O envelhecimento do organismo torna-se o fator de risco para o surgimento de doenças, envolvendo a dinâmica

mitocondrial, pois o aumento da fissão é necessário para a degradação mitocondrial, mas pode não ser suficiente para a mitofagia em condições com aumento da fusão mitocondrial, dificultando a degradação (Askanas, 2015).

A presença de alterações histológicas características de alterações mitocondriais na IBM é bem definida, especialmente pela presença de RRF (*ragged red fibers*), fibras COX negativas, ou com redução da sua atividade, e alterações estruturais na microscopia eletrônica. Vários estudos sugerem que as fibras com redução da COX na IBM apresentam acúmulo de DNA mitocondrial (mtDNA) (Oldfors, 1993), por desarranjo na relação mitofagia/fusão. Em recente publicação, Lindgren e cols. (2015) demonstraram que os pacientes com muitas fibras com redução da COX apresentam maior proporção de deleções no mtDNA, quando comparados aos casos com poucas fibras com redução da COX, relacionando-se clinicamente com maior queixa de fadiga e sintomas induzidos pelo esforço (Joshi, 2014). Outro achado relevante é a ligação entre a coenzima-Q10, uma molécula importante com função na cadeia respiratória mitocondrial, e a produção de agregados de *tau* na DA. Fato que poderia ser evidenciado também na IBM (Santa-Maria, 2008). Um grupo de Newcastle/UK estreitou ainda mais a correlação entre a gravidade da inflamação, o grau de alterações mitocondriais e a atrofia muscular, propondo que células inflamatórias tenham papel importante como causador dos danos no mtDNA, que quando acumulado gera disfunção respiratória, atrofia das fibras e, finalmente, a degeneração das fibras musculares (Rygiel, 2015).

2.2.3 Biópsia muscular

À histologia muscular, há evidência de dois processos patológicos: inflamação extracelular mediada por células T e degeneração muscular multifacetada. De forma semelhante às outras miopatias inflamatórias, ocorrem: inflamação endomisial com predomínio de macrófagos, que podem ser evidenciados através da marcação com anticorpo anti-CD68, invasão de fibras musculares por linfócitos T citotóxicos (CD8+), além do aumento da expressão de MHC-I (Nogalska, 2011). É importante ressaltar que a presença de inflamação é imperativa para o diagnóstico. O achado histológico mais característico da IBM, mas não patognomônico, é a presença de vacúolos marginados. Estes vacúolos podem ser únicos ou múltiplos e apresentam material granular basofílico no interior e coloração avermelhada nas bordas, melhor visualizada na coloração pelo tricrômio de Gomori (Dalakas, 2006). Embora a presença de vacúolos marginados seja muito típica da IBM, eles são encontrados em menos de 20% das biópsias, muitas vezes sendo detectados apenas na

segunda ou terceira biópsia de pacientes com fenótipo de IBM, achados histopatológicos de PM e refratários ao tratamento convencional (**Dimachkie, 2011**). Uma alteração histológica importante para o diagnóstico é a demonstração de depósito amilóide congofílico no interior das fibras. Estes depósitos são melhor visualizados pela imunofluorescência usando filtro *Texas-red*, e podem ser encontrados mesmo nas fibras não vacuolizadas (**Dalakas, 2006**). Outros achados histológicos mais inespecíficos incluem variabilidade no tamanho das fibras, fibras atrofiadas anguladas e aumento variável do tecido conjuntivo endomisial e perimisial.

Alterações mitocondriais são frequentemente detectadas na IBM, incluindo fibras com proliferação anormal de mitocôndrias (ex. fibras rasgadas vermelhas – *ragged red fibers* – RRF, aumento da atividade ao SDH) e citocromo-C-oxidase negativas (**Dalakas, 2006; Askanas, 2011**). Na microscopia eletrônica é possível visualizar acúmulo de inclusões túbulo-filamentosas de 15-21 nm de diâmetro, presença de coleções citoplasmáticas de filamentos amilóide-símile de 6-10 nm de diâmetro e de alterações mitocondriais (**Dalakas, 2006**). Os vacúolos contêm material amorfo e restos de membranas e muitos deles apresentam aspecto autofágico. Inclusões paracristalinas são frequentemente notadas nas mitocôndrias (**Askanas, 2011**). Os vacúolos não são específicos da IBM, podendo ser vistos em outras miopatias, como, disferlinopatias, miopatias miofibrilares, distrofia facioescapuloumeral e distrofia muscular de Emery-Dreifus (**Semino-Mora, 1988; Selcen, 2004**).

Além dos vacúolos, podem ocorrer agregados de proteínas diversas cujo acúmulo está associado a várias doenças neurodegenerativas, tais como a proteína p-tau (associada à DA), TDP-43 (associada à ELA) e α -sinucleína (associada à DP), além de ubiquitina e α B-cristalina. Tais agregados podem ocorrer mesmo em fibras que não contêm vacúolos, de forma que a imunoistoquímica para estas proteínas tem sido usada como método diagnóstico nos casos com histologia duvidosa (**Dalakas, 2010; Askanas, 2011**). Por exemplo, a p62, que é uma proteína que participa do transporte de proteínas poliubiquitinadas para o proteasomo e lisossomo, na IBM é um componente dos filamentos helicoidais que também contém p-tau. A imunomarcagem usando anticorpos contra a p62 tem demonstrado um aumento da expressão desta proteína nos agregados proteicos. Esta imunoreatividade ocorre em até 80% das fibras vacuolizadas e em até 25% das fibras com aspecto histológico normal, sendo, portanto extremamente útil para o diagnóstico, já que tal imunoreatividade não ocorre em outras formas de miopatias inflamatórias. Reação positiva para ubiquitina tem sido demonstrada nas inclusões que contêm β -amilóide e p-tau, sendo também útil para diferenciar a IBM da PM (**Askanas, 2011**).

2.2.4 Critérios diagnósticos

Os critérios diagnósticos mais utilizados são os descritos por **Griggs (1995)** e expostos no **Quadro 1**. No entanto, biópsias de diversos pacientes com clínica típica de IBM não apresentam os achados histopatológicos. Na tentativa de aumentar a sensibilidade do diagnóstico, diversos novos critérios foram propostos: 1-) Critérios diagnósticos do Centro Europeu de Doenças Neuromusculares (ENMC) para IBM, em 1997, expostos do **Quadro 2 (Verschuuren, 1997; Badrising, 2000)**, 2-) Critérios diagnósticos do Centro de Doenças Neuromusculares do *Medical Research Council* (MRC), em 2008/2009, para IBM descritos no **Quadro 3 (Benveniste, 2010; Hilton-Jones, 2010)** e, mais recentemente, 3-) Critérios diagnósticos do Centro Europeu de Doenças Neuromusculares (ENMC) para IBM em 2011 destacados no **Quadro 4 (Rose, 2013)**.

Em um recente estudo, **Brady e colaboradores (2013)** verificaram que os critérios propostos pelo ENMC 2011 foram os mais sensíveis para diagnosticar os casos de IBM, diagnosticando 88% dos casos, comparado a 76% e 27%, correspondentes respectivamente à utilização dos critérios ENMC 1997 e Griggs 1995 (**Brady, 2013**). Este mesmo grupo de pesquisadores sugeriu um fluxograma diagnóstico para a IBM reproduzido na **Figura 1**, baseado nos achados patológicos (**Brady, 2014**).

Figura 1: Fluxograma diagnóstico para IBM sugerido por Brady e cols (Brady, 2014).

2.2.5 Diagnósticos diferenciais

Dentre os principais diagnósticos diferenciais da IBM, o mais difícil é com a PM, especialmente nas fases iniciais da doença, já que em ambas há a ocorrência de inflamação predominantemente linfocitária e aumento da expressão do MHC-I. Em comparação com a IBM, a PM apresenta quadro clínico mais agudo, acentuada elevação de CK, resposta satisfatória à imunossupressão, inflamação muscular sem ocorrência de inclusões ou depósitos amilóides. Outro diagnóstico diferencial, não menos importante, é a DM que também apresenta evolução mais rápida, com fraqueza mais proximal, associada à presença de alterações cutâneas e maior elevação de CK, assim como alterações histológicas características (infiltrado inflamatório perivascular, atrofia perifascicular) (**Solorzano, 2011**). Diversas outras doenças fazem diagnóstico diferencial clínico, ou histológico, com a IBM, como outras miopatias de envolvimento distal (distrofia miotônica, miopatias distais), miopatias que também apresentam vacúolos marginados (HIBM, distrofias do tipo cinturas), disferlinopatias, miopatias miofibrilares, distrofia facioescapuloumeral, distrofia muscular de Emery-Dreifus, neuropatias periféricas (amilóide, hereditárias) e condições que acometem o corno anterior da medula (ex. Síndrome pós-poliomielite, ELA) (**Semino-Mora, 1988; Selcen, 2004; Solorzano, 2011**).

3 Justificativa

Apesar de ser considerada a forma mais comum de miopatia após os 50 anos de idade, há poucos estudos no nosso meio caracterizando os achados clínicos e histológicos musculares destes pacientes. No Brasil, há apenas um estudo incluindo um grande número de pacientes, com enfoque nos aspectos clínicos (**Alverne, 2013**). Desta forma, a idéia deste estudo foi a de caracterizar os achados clínicos e histológicos musculares de pacientes com IBM atendidos em dois grandes centros de referência em doenças musculares na cidade de São Paulo; ressaltando que a inclusão de pacientes no estudo deverá atender aos principais critérios de classificação para a doença descritos até o momento. Desta forma será possível traçar um perfil clínico e histológico destes casos, a qual será extremamente útil no diagnóstico precoce da doença. Por outro lado, a análise imunoistoquímica de marcadores de autofagia e de neurodegeneração poderá identificar biomarcadores para diferenciação da IBM de outras formas de miopatias inflamatórias.

4 Objetivos

4.1 Objetivo geral

Análise clínica, assim como a avaliação histológica e imunoistoquímica nas biópsias musculares de pacientes portadores de IBM.

4.2 Objetivos específicos

- Descrever as alterações clínicas e histológicas musculares na IBM.
- Determinar o padrão de expressão tecidual para TDP-43, p-tau (p62), α -sinucleína, assim como identificar depósitos amilóides através da reação vermelho-Congo, na musculatura esquelética de pacientes com IBM.
- Estudar alterações da função lisossomal, através da reação para fosfatase ácida (marcação da atividade lisossomal global), expressão da LC3B e p62 (marcadores de autofagia) em pacientes com IBM.

5 Casuística e metodologia

5.1 Casuística

Foram incluídos no estudo um total de 18 pacientes submetidos à biópsia muscular com diagnóstico clínico e histológico de IBM, em acompanhamento médico regular no Grupo de Miopatias da Divisão de Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) ou no Setor de Investigação em Doenças Neuromusculares do Departamento de Neurologia e Neurocirurgia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (UNIFESP/EPM). Os experimentos laboratoriais foram realizados no Laboratório de Investigação Médica (LIM) 15 ou LIM 45 da FMUSP.

Foram utilizados os critérios diagnósticos propostos por Griggs para a inclusão dos pacientes no estudo (**Quadro 1**), tanto definitivo quanto possível (**Griggs, 1995**). Foram excluídos os pacientes com história familiar de IBM e qualquer outra doença neuromuscular. Por este motivo, a abreviatura IBM corresponde somente aos casos referentes à forma esporádica.

Este estudo foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do HC-FMUSP em **19/10/2011** (No Protocolo: **0740/11**) – **ANEXO 1** - e incluído o Setor de Investigação em Doenças Neuromusculares da UNIFESP/EPM como centro co-participante em 27/02/2014 (**ANEXOS 2 e 3**).

5.2 Avaliação clínica

A história clínica/anamnese de todos os pacientes foi avaliada quanto à idade de início dos sintomas, ao tempo de evolução, aos sintomas iniciais, à associação com alteração do equilíbrio, sintomas depressivos, disfagia, dispneia ou perda ponderal, além dos antecedentes pessoais, história familiar e o uso prévio de medicações. A presença de fraqueza foi avaliada através de exame físico/neurológico, incluindo a avaliação com a escala MRC (*Medical Research Council*) de força muscular e a condição funcional motora, através da Escala de Rankin modificada, tal como demonstrado no **Quadro 5** (**van Swieten, 1988**). Adicionalmente, foi usado o índice de Barthel simplificado, para avaliar os efeitos do déficit funcional motor nas atividades de vida diária (AVDs) (**Quadro 6**) (**Mahoney, 1965**).

Os pacientes foram avaliados pelo autor do trabalho no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do Departamento de Neurologia do HC-FMUSP ou no Ambulatório do Setor de Investigação em Doenças Neuromusculares da UNIFESP/EPM em mais de uma ocasião com intervalo de pelo menos 6 meses entre elas.

5.3 Exames subsidiários gerais

Foram anotados os resultados de exames e avaliações já realizadas pelos pacientes, mesmo que em outros laboratórios ou serviços. Analisou-se a dosagem de CK, além de outras enzimas musculares, provas de atividade inflamatória, provas reumatológicas, provas endocrinológicas, marcadores tumorais e eventualmente outros exames laboratoriais direcionados às comorbidades de cada paciente. Foram anotados os resultados dos exames de ENMG, o qual foi realizado em todos os pacientes.

Eventualmente foram analisados outros resultados de exames complementares especializados como tomografia computadorizada (TC) de tórax, TC de abdome total/pelve, prova de função pulmonar/espirometria (PFP), ecocardiograma, holter 24 horas, mamografia, ultrassonografia (USG) ginecológica ou de mamas, RM muscular, eletromiografia de superfície durante a deglutição. Adicionalmente, foram anotadas avaliações já realizadas pelos pacientes, mesmo que em outros serviços, tais como avaliação otorrinolaringológica, cardiológica, fonoaudiológica e fisioterapêutica, sendo incluídos na análise.

5.4 Biópsia muscular

Todos os pacientes já tinham exame de biópsia muscular realizados entre 2004 e 2016, já que este foi o exame usado para confirmação do diagnóstico. Não houve necessidade de solicitação de novo exame. Biópsias realizadas previamente no Setor de Investigação em Doenças Neuromusculares da UNIFESP/EPM foram também analisadas.

A metodologia empregada para o processamento das biópsias segue os procedimentos padrões, tais como descrita sumariamente a seguir: após a remoção, os fragmentos musculares são montados em cortiça usando *tissue-tek*, e rapidamente congelados em nitrogênio líquido. Permanecem estocadas ou em nitrogênio líquido (LIM15) ou em freezer a -80°C (UNIFESP) desde a realização da biópsia até o processamento do material. São realizados cortes coronais

sequenciais em criostato a uma temperatura de -25°C, com uma espessura de 6 a 8 micras, e as lâminas resultantes são estocadas em freezer a -80°C.

Para padronização das reações imunoistoquímicas foram utilizadas as biópsias musculares de um paciente com diagnóstico histológico normal (**caso 19**) e de quatro pacientes com diagnóstico histológico de miopatia inflamatória, sendo dois com diagnóstico de dermatomiosite (**casos 20 e 21**) e dois com diagnóstico histológico de polimiosite (**casos 22 e 23**). O indivíduo com diagnóstico histológico normal foi submetido ao exame de biópsia muscular devido à queixa clínica de fraqueza e fadiga muscular. Os pacientes com diagnóstico de miopatia inflamatória foram submetidos ao exame de biópsia muscular por queixa de mialgia, fraqueza e elevação sérica de CK.

5.4.1 Reações histológicas e histoquímicas

Antes da coloração, as lâminas com amostras dos músculos permaneceram por 10 minutos em temperatura ambiente para secar. Os cortes de congelação foram corados pelos métodos histológicos de hematoxilina & eosina (HE), tricrômico de Gomori modificado por Engel e Cunningham - 1963 (GOM), ácido periódico de Schiff (PAS) e “oil red” O (ORO); e também às reações histoquímicas NADH-*tetrazolium reductase* (NADH-TR), succinato desidrogenase (SDH), citocromo C oxidase (COX), adenosina trifosfatase (ATPase) em pHs ácidos (4.3 e 4.6) e alcalino (9.3), e fosfatase ácida. As reações foram realizadas segundo técnicas já bem estabelecidas na literatura (Dubowitz, 2013).

Os aspectos histológicos foram analisados qualitativamente quanto à variabilidade de tamanho entre as fibras musculares, ao aumento do tecido conjuntivo endomisial/perimisial, à proporção de fibras com centralizações nucleares, e à presença de: fibras com necrose e/ou macrofagia, fibras em regeneração, inflamação endomisial, perimisial e perivascular, formação vacuolar e mais especificamente de vacúolos-marginados e alterações mitocondriais (RRF – *ragged red fibers*, fibras SDH-positivas e fibras COX-negativas). Foi também avaliada a reatividade nas reações das fosfatases ácida e alcalina, a presença de alterações neurogênicas (fibras anguladas e agrupamento de tipos de fibras), alterações da citoarquitetura (falhas focais, fibra em mordida de traça, fibras em alvo e fibras lobuladas) e acúmulo de gordura e de glicogênio. Estes aspectos foram avaliados qualitativamente em presentes (P) ou ausentes (A), assim como quantitativamente em graus leve (+), moderado (++) e acentuado (+++), pelo autor do trabalho, juntamente com o Prof. Dr. Edmar Zanoteli.

Foi também realizada a reação de vermelho-congo em pH alcalino, útil na identificação de depósitos amilóides, sendo visualizadas em microscópio de imunofluorescência com filtro *Texas red* (Mendell 1991; Askanas, 1993).

5.4.2 Reações imunoistoquímicas

Os cortes de congelação foram submetidos à técnica de imunoistoquímica usando o sistema de amplificação por polímero não biotinilado Novolink (*kit Novolink max polimer detection system*, Novocastra®, código RE7140-K ou RE7150-K, New Castle Upon Tyne, UK) seguido de coloração de DAB (diaminobenzidina). As lâminas com amostras dos músculos permaneceram 10 minutos em temperatura ambiente para secar, e sem fixação, os cortes foram incubados em solução de bloqueio em temperatura ambiente (*Peroxidase Block*, Novocastra®, código RE7101, New Castle Upon Tyne, UK) por 5 minutos. Foram então lavados em TBS (Tris 50mM e NaCl 0,9%; pH 7,6) por 2 vezes de 5 minutos e seguidos de incubação com outra solução de bloqueio em temperatura ambiente (*Protein Block*, Novocastra®, código RE7102, New Castle Upon Tyne, UK) por 10 minutos. Após lavagem em TBS por 2 vezes de 5 minutos, foram incubados com os anticorpos primários diluídos no segundo tampão de bloqueio (*Protein Block*) por 1 hora em temperatura ambiente. Em seguida, novamente lavados em TBS por 2 vezes de 5 minutos e incubados com solução de bloqueio de anticorpo primário (*Post Primary*, Novocastra®, código RE7111, New Castle Upon Tyne, UK) por 20 minutos, seguidos de lavagem em TBS por 2 vezes de 5 minutos e incubação com polímero (*NovolinkTM Polymer*, Novocastra®, código RE7112, New Castle Upon Tyne, UK) por 20 minutos. Após lavagem em TBS por 2 vezes de 5 minutos, as reações foram reveladas usando DAB (diaminobenzidina) [50 µL *DAB Chromogen* - código RE7105 diluída em 1mL de *NovolinkTM DAB Substrate Buffer – Polymer* - código RE7143, Novocastra®, New Castle Upon Tyne, UK] por cerca de 2 a 5 minutos, sendo posteriormente lavadas em água corrente por 2 vezes de 2 minutos para bloquear a DAB. Seguidas de gotejamento com hematoxilina de Harris para contra-coloração. Foi realizada desidratação em bateria com concentração crescente de etanol (95%, 95%, 95% e 100%), fixação em xilol e montagem em meio com xilol. Os anticorpos primários utilizados são apresentados na **Tabela 1**.

Tabela 1: Anticorpos primários utilizados na imunoistoquímica no presente estudo.

Anticorpo	Host /Clone	Empresa/ código	Diluição
Anti-CD68	<i>Mouse/ EBM11</i>	DAKO/ M0718	1:100
Anti-CD4	<i>Mouse/ 4B12</i>	DAKO/ M7310	1:100
Anti-CD8	<i>Mouse/ C8/144B</i>	DAKO/ IS623	1:100
Anti-MHC-I	<i>Mouse/ W6/32</i>	DAKO/ M0736	1:100
Anti- LC3B	<i>Rabbit</i>	Sigma/ L7543	1:100
Anti- α -synuclein	<i>Rabbit</i>	Sigma/ S3062	1:100
Anti-p62/SQSTM1	<i>Rabbit</i>	Sigma/ P0068	1:100
Anti-phospho TDP-43	<i>Mouse/ 11-9</i>	Cosmo Bio/ pS409/410	1:5000
Anti- γ Sarcoglycan	<i>Mouse/ 35DAG/21B5</i>	Novocastra/ ab49811	1:100
Anti- α Sarcoglycan	<i>Mouse/ Ad1/20A6</i>	Novocastra/ NCL-L-a-SARC	1:100
Anti-dystrofin (Rod Domain)	<i>Mouse/ Dy4/6D3</i>	Novocastra/ NCL-DYS1	1:100
Anti-dysferlin	<i>Mouse/ Ham3/17B2</i>	Novocastra/ NCL-Hamlet-2	1:100
Anti-caveolin-3	<i>Rabbit</i>	Abcam/ ab2912	1:100

6 Resultados

6.1 Avaliação clínica

Foram incluídos no estudo 18 pacientes com IBM submetidos à biópsia muscular entre 2004 e 2016, preenchendo os **Critérios de Griggs (1995) – Quadro 1** – para o diagnóstico de IBM definitiva, sendo 11 do sexo masculino (61%) e 7 do sexo feminino (39%) (**Tabela 2**).

A média de idade do início dos sintomas foi de $58,8 \pm 10,9$ anos de idade (variando de 38 a 75 anos de idade). Em 17% dos pacientes (n=3) a sintomatologia teve início antes dos 45 anos de idade, sendo dois do sexo masculino (40 e 42 anos de idade) e um do sexo feminino (38 anos de idade) (**Tabela 2**). Em 56% dos casos, os sintomas surgiram após os 60 anos de idade. Aproximadamente 83% (n=15) dos pacientes são de cor branca, embora em nosso país a miscigenação dificulta essa análise (**Tabela 2**).

O tempo médio entre o início dos sintomas e o diagnóstico de IBM foi de $7,4 \pm 7,1$ anos (variando de 11 meses a 31 anos). Quinze pacientes (83%) apresentaram o diagnóstico inicial de miopatia inflamatória, sendo submetidos a diversos tratamentos medicamentosos descritos na **Tabela 3**. Um paciente (**caso 16**), após certo período de tratamento para miopatia inflamatória, foi diagnosticado com doença do neurônio motor (DNM) (**Tabela 3**).

Disfagia foi um sintoma comum, sendo encontrado em 67% dos paciente (n=12) (**Tabela 2**). Perda ponderal esteve presente em nove pacientes (50%), sendo relacionada em um caso com piora da disfagia pela azatioprina e recuperação parcial do peso basal após suspensão (**caso 8**) e outro paciente com diarreia importante, associada a síndrome consuptiva após início do uso de mofetila, com ganho ponderal parcial após sua suspensão (**caso 1**). (**Tabela 3**).

Em treze dos pacientes (72%) havia queixa de frequentes quedas da própria altura, muitas vezes interpretadas pelos pacientes como alteração do equilíbrio, sendo que em seis deles as queixas estiveram presentes no primeiro ano de história (**Tabela 2**).

Tabela 2: Identificação e dados da anamnese de 18 pacientes com IBM.

Caso	Sexo	Cor	DN	Início ¹	Evolução ²	Quedas ³	Disfagia	PP ⁴	Dispneia	SD	Sintoma inicial
1	M	B	27/07/1942	40	401	P	P	P	P	P	FPMIII
2	M	B	13/03/1941	54	245	P	P	A	P	P	F4MM
3	M	B	13/03/1956	52	91	A	P	A	P	P	FPMIII
4	M	B	08/01/1943	65	77	P	P	P	A	P	Disfagia
5	M	B	15/12/1944	55	89	P	P	P	A	A	FPMIII
6	F	B	22/12/1948	61	63	A	A	A	A	A	FPMIII
7	M	N	13/02/1953	55	91	P	P	P	A	A	F4MM
8	F	B	25/07/1952	53	125	P	P	P	A	A	FPMIII
9	M	B	10/05/1966	42	101	A	A	A	A	A	FDMSS
10	F	N	04/09/1968	38	99	A	A	A	P	A	FPMS
11	M	B	26/01/1938	66	139	P	P	P	A	P	FDMI
12	M	B	16/10/1951	60	39	P	A	A	A	A	FDMI
13	F	AM	21/03/1950	55	126	A	P	P	A	A	F4MM
14	F	B	26/06/1941	65	96	P	A	P	A	P	FPMIII
15	F	B	15/07/1936	75	46	P	P	A	A	A	F4MM
16	M	B	27/09/1939	73	24	P	P	P	P	A	FDMI
17	F	B	12/06/1945	64	57	P	P	A	A	A	F4MM
18	M	B	25/08/1935	75	60	P	A	A	A	A	FPMIII

1- Idade de início dos sintomas em anos. **2-** Tempo de evolução da doença em meses. **3-** Queixa de instabilidade postural ou quedas. **4-** Perda ponderal antecedendo, ou no início da doença. **F**= Feminino. **M**= Masculino. **AM**= amarela. **B**= branca. **N**= negra. **DN**= Data de nascimento. **PP**= Perda ponderal. **SD**= Sintomas depressivos. **FDMI**= fraqueza distal de um dos membros inferiores. **FDMSS**= fraqueza distal dos membros superiores. **FPMIII**= fraqueza proximal dos membros inferiores. **FPMS**= fraqueza proximal de um dos membros superiores. **F4MM**= fraqueza não caracterizada dos 4 membros. **P**= Presente. **A**= Ausente.

Tabela 3: Medicções utilizadas pelos pacientes com IBM, duração do tratamento, efeitos colaterais e alterações clínico-laboratoriais referentes ao tratamento.

Caso	Medicação	Duração	Efeito colateral	Alteração clínico-laboratorial
1	AZAT 150mg/dia	6 meses	calafrios e prostração	não
	PRED 60mg/dia	8 anos	não	não
	PRED 60mg 8/8 horas	90 dias	anasarca	não
	Mofetila	3 meses	diarréia e sd. Consumptiva	não
	MTX 20mg/semana	3 anos	não	não
2	PRED 60mg/dia	9 dias	anasarca	não
3	IGIV 400mg/kg	PT 2 dias (por 2x)	não	não
	Abatacepte	10 doses	não	melhora motora discreta NS
	Leflunomida 20mg/dia	3 anos	não	não
	PRED 30mg/dia	6 anos	não	não
	Ciclofosfamida	1 ano	não	não
	AZAT até 250mg/dia	1 ano	leucopenia	não
	Ciclosporina	2 x pulsoterapia	não	não
4	Deflazacort 45mg/dia	1 mês	piora da fraqueza	não
	Deflazacort 30mg/dia	4 meses	não	não
5	MTX 7,5mg/semana	4 anos	não	não
6	PRED 60mg/dia	1 ano	não	não
	AZAT 250mg/dia + PRED 20mg/dia	2 meses	não	não
	MP 1grama	PT por 2 dias	não	melhora motora discreta NS
8	AZAT		pancitopenia	não
	Ciclosporina		vômitos incoercíveis	não
	PRED 40mg/dia	3 anos	Sd. Cushing medicamentosa	não
	MP 1 grama	PT por 2 dias	não	melhora parcial da disfagia
	MTX	1 ano	intolência gástrica	não
10	AZAT 150mg/dia	1,5 ano	não	não
	MTX 20mg/semana + PRED 60mg/dia	2 anos	não	não
	Rituximab	1 ciclo	não	não
11	MP 1 grama	PT 5 dias	não	não
	PRED 40mg/d	6 meses	não	redução CPK sem melhora clínica
	MTX + AZAT	4 anos	não	redução CPK sem melhora clínica
12	IGIV 400mg/kg	2 anos	não	não
13	PRED (dose máxima 80mg/d)	8 anos	edema + ganho ponderal	não
	MP 1 grama + IGIV 400mg/kg	PT por 2 dias/cada	não	melhora motora discreta NS
	AZAT	1,5 ano	não	não
14	MTX	1 mês	intolência gástrica	não
16	MTX	1 ano	não	não
	Coenzima-Q10	15 meses	não	não
	Riluzole	15 meses	não	não
17	PRED 20mg/dia	6 meses	não	não
18	PRED 60mg/dia + ácido fólico 5mg/d	9 meses	edema + ganho ponderal	melhora motora discreta NS

PRED= prednisona. **IGIV**= imunoglobulina humana endovenosa. **AZAT**= azatioprina. **MP**= metilprednisolona. **MTX**= metotrexato. **PT**= pulsoterapia. **NS**= não-sustentada.

Dispneia foi queixa de 28% (n=5) dos pacientes, sendo que o início ocorreu durante os dois primeiros anos da doença. Um dos pacientes tinha síndrome da apneia obstrutiva do sono e doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) secundária ao tabagismo, e em oxigenioterapia domiciliar. Outros dois pacientes também tinham DPOC, porém com espirometria demonstrando distúrbio restritivo. O quarto caso, tinha queixa de dispneia ao repouso, porém com espirometria normal, enquanto o quinto caso era portador de asma (**Tabela 2 e Tabela 4**).

Tabela 4: Comorbidades observadas em 18 pacientes com IBM.

Comorbidade	n	Percentual
Hipertensão arterial sistêmica	13	72%
Diabetes mellitus tipo 2 / resistência insulínica	4	22%
Osteopenia/osteoporose	4	22%
Dislipidemia	4	22%
Hiperuricemia / gota	4	22%
Doença pulmonar obstrutiva crônica (tabagismo)	3	17%
Hiperplasia prostática benigna	3	17%
Glaucoma	3	17%
Hipertrigliceridemia	2	11%
Diverticulose colônica	2	11%
Catarata	2	11%
Infarto agudo do miocárdio	2	11%
Síndrome apnéia obstrutiva do sono	2	11%
Hipotireoidismo	2	11%
Lúpus eritematoso túbido (infiltração linfocitária de Jessner)	1	6%
Herpes zoster	1	6%
Prostatectomia radical	1	6%
Síndrome Wolf-Parkinson-White	1	6%
Síndrome das pernas inquietas	1	6%
Tratamento conservador hérnia discal lombar	1	6%
Tratamento cirúrgico hérnia discal lombar	1	6%
Toxoplasmose ocular	1	6%
Acidente vascular cerebral isquêmico	1	6%
Infecção prévia HTLV-I	1	6%
Carcinoma espinocelular (face)	1	6%
Sarcoidose	1	6%
Migrânea com aura	1	6%
Insuficiência coronariana	1	6%
Asma	1	6%
Histerectomia total (miomas)	1	6%
Polineuropatia periférica (diabética)	1	6%
Hipertensão pulmonar	1	6%
Cirroze hepática idiopática	1	6%
Pneumopatia intersticial	1	6%
Tromboembolismo pulmonar	1	6%
Trombose veia central retina	1	6%
Nefrolitíase	1	6%

n= número absoluto.

Dentre as principais comorbidades encontradas nos pacientes com IBM desse estudo, estão a hipertensão arterial sistêmica (n= 13 / 72%), diabetes mellitus do tipo 2 (n=4 / 22%),

osteopenia/osteoporose (n= 4 / 22%), dislipidemia (n= 4 / 22%), hiperuricemia/gota (n= 4 / 22%), doença pulmonar obstrutiva crônica (n= 3 / 17%), hiperplasia prostática benigna (n= 3 / 17%) e glaucoma sem história familiar (n= 3 / 17%). Outras doenças associadas observadas nos nossos pacientes estão demonstradas na **Tabela 4**.

A mensuração da força muscular dos pacientes, aferida conforme a escala *MRC* (1981), está demonstrada na **Tabela 5**. Todos os pacientes com IBM avaliados apresentaram comprometimento da musculatura flexora dos punhos (exceto o **caso 13**), flexora dos dedos das mãos e extensora das pernas. Outros grupamentos musculares envolvidos na maior parte dos casos foram os músculos bíceps braquial, tríceps braquial, musculatura flexora da coxa (principalmente o músculo iliopsoas), extensora da coxa e flexora da perna. Menos frequente, mas acometendo ao redor de 56% dos casos, está a musculatura flexora do pé. Na **Figura 2**, demonstramos a atrofia muscular e o comprometimento motor da flexão das falanges distais em alguns casos com IBM; bem como a presença de fraqueza da musculatura abdominal inferior, acompanhada pelo sinal de Beevor, desvio superior da cicatriz umbilical à avaliação do reflexo cutâneo abdominal no **caso 2 (Figura 2)**.

Tabela 5: Avaliação da força muscular (MRC – Medical Research Council, 1981) em 18 pacientes com IBM.

Caso	RG-HC-FMUSP ou N.º biopsia	UNIFESP-EPM	FP	EP	DD	DE	BBD	BBE	TBD	TBE	FPUD	FPUE	FDMD	FDME	EDMD	EDME	ABD	FCD	FCE	ECD	ECE	FPPD	FPE	EPD	FPEE	FPED	FDPEE	EDPED	EDPEE
1	13707383-G		4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	5	5	3	3	3	3	3	3	3	3	5	5	5	5	5
2	14001070-H		5	5	5	4	4	4	5	5	3	3	5	3	5	5	3	3	3	5	5	5	5	4	4	4	4	5	5
3	5548053-A		5	5	4	4	4	4	4	4	3	3	4	3	4	4	5	4	4	4	4	4	4	4	3	3	4	5	5
4	3066343-D		5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	5	4	5	5	5	5	4	5	5	5	5	4	4	5	5	5	5
5	14097807-E		4	4	5	5	4	4	3	3	4	4	5	5	3	5	5	3	3	3	3	3	3	3	5	4	5	4	5
6	88217059-K		5	5	5	5	4	4	5	5	4	4	5	4	5	5	5	5	5	5	4	4	4	4	5	5	5	5	5
7	14042111-C		5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	5	4	5	5	5	4	4	4	4	4	3	5	5	5	5	5	5
8	13821998-H		3	3	4	4	4	4	4	4	3	3	4	3	3	4	4	2	2	2	2	3	3	2	2	4	4	4	4
9	13918231-C		5	5	5	4	4	4	4	4	4	5	5	4	4	5	5	4	4	5	5	5	4	4	5	5	5	5	5
10	13927858-I		5	5	4	4	2	3	3	3	4	4	3	3	3	3	4	2	2	2	2	4	4	3	3	4	4	4	4
11	13630754-A		5	5	4	4	5	4	4	4	4	4	5	5	4	4	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	5	4	5
12	4003395-H		4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	5	5	3	5	5	4	4	4	4	5	3	3	4	0	5	4	5
13	13857305-C		4	5	4	4	4	4	4	4	5	5	5	4	4	4	4	3	3	4	4	4	4	4	5	5	4	5	5
14	88240898-G		4	4	4	4	4	4	5	5	4	4	5	4	4	5	5	4	4	3	4	4	4	3	4	5	5	5	5
15	14124110-J		4	4	4	5	4	4	5	5	4	4	5	5	4	4	5	5	4	3	4	3	5	5	4	5	5	5	5
16	11520-EPM		4	4	5	5	4	4	3	3	3	2	4	4	3	2	4	4	4	4	4	3	3	3	2	3	2	4	4
17	11544-EPM		5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	5	4	4	5	5	4	4	5	5	5	5	4	4	5	5	5	5
18	11577-EPM		5	5	4	4	4	4	4	4	4	3	5	4	4	3	5	4	4	4	4	4	4	2	2	3	3	4	4

Graus de força muscular. 5= Normal. 4= contra gravidade/leve resistência. 3= somente contra gravidade. 2= movimento articular sem vencer gravidade. 1= esboço de contração, sem movimento articular. 0= sem contração muscular.

Figura 2: Pacientes com IBM. Demonstração da atrofia muscular, o comprometimento motor da flexão das falanges distais e um caso com fraqueza abdominal. A: Atrofia MQF direito (caso 1). B: Atrofia MQF bilateral (caso 7). C: Atrofia MQF bilateral (caso 4). D: Atrofia da musculatura MMSS bilateral (caso 5). E: Sinal de Beevor (caso 2). F: Atrofia da musculatura flexora dos punhos e dos dedos das mãos e incapacidade de flexão das falanges distais (caso 16). G: Atrofia da musculatura dos MII (caso 16). MQF= músculo quadríceps femoral.

A condição funcional dos pacientes está exposta na **Tabela 6**. Estão expostas as informações de duas avaliações com intervalo de 12 a 18 meses. Não houve relação entre a idade de início dos sintomas, tempo de instalação da doença, grau de incapacidade ou limitação para a execução das AVD. Alguns casos foram avaliados apenas 1 vez pelo autor do trabalho (**casos 4, 13, 15,16,17 e 18**). Em todos os outros casos com IBM houve piora da incapacidade e aumento das limitações de AVD após 12 a 18 meses da primeira avaliação.

Tabela 6: Escala de Rankin modificada (RmS) e índice de Barthel (IB) em 18 casos com IBM.

Caso	Tempo de instalação ¹	Idade de início ²	RmS		IB		Limitação AVD	
			2013/2014	2015	2013/2014	2015	2013/2014	2015
1	401	40	4	4	45	40	moderada	moderada
2	245	54	3	4	85	55	leve	moderada
3	52	52	3	4	75	55	leve	moderada
4	77	65	2	NR	95	NR	leve	NR
5	89	55	2	2	95	85	leve	leve
6	63	61	3	3	75	65	leve	leve
7	91	55	2	2	100	85	independente	leve
8	125	53	4	4	75	55	leve	moderada
9	101	42	2	2	90	80	leve	leve
10	99	38	3	3	70	60	leve	leve
11	139	66	2	2	95	90	leve	leve
12	36	58	2	2	95	90	leve	leve
13	126	55	NR	2	NR	95	NR	leve
14	96	65	2	2	90	85	leve	leve
15	46	75	NR	2	NR	95	NR	leve
16	24	73	NR	3	NR	80	NR	leve
17	57	64	NR	2	NR	85	NR	leve
18	60	75	NR	4	NR	40	NR	moderada

1= Tempo decorrente desde o início dos sintomas (meses). **2**= Idade de início dos sintomas (anos). **AVD**= Atividades de vida diária. **RmS**= Escala de Rankin modificada. **IB**= Índice de Barthel. **NR**= não realizado.

6.2 Exames subsidiários

A dosagem dos valores séricos de CK foram realizadas no HC-FMUSP, sendo também incluídos resultados de dosagens prévias realizadas em serviços externos. Os valores apresentados foram expressos em valores absolutos da dosagem de maior valor (214 U/L - 2656 U/L), mas também em relação ao limite superior da normalidade (LSN), tanto para o sexo masculino, quanto para o sexo feminino, a qual variou de 1,11 a 9,48 (**Tabela 7**). Nenhum caso ultrapassou os limites utilizados nos critérios diagnósticos.

Tabela 7: Valores absolutos máximos e em relação ao LSN de CK em 18 pacientes com IBM.

Caso	Sexo	CK máxima	x LSN ¹
1	Masculino	1127	3,65
2	Masculino	417	1,35
3	Masculino	2656	8,62
4	Masculino	1114	3,61
5	Masculino	456	1,48
6	Feminino	596	3,1
7	Masculino	1500	4,87
8	Feminino	1511	7,86
9	Masculino	473	1,53
10	Feminino	1108	5,77
11	Masculino	438	1,42
12	Masculino	1827	5,93
13	Feminino	1617	8,42
14	Feminino	1822	9,48
15	Feminino	214	1,11
16	Masculino	498	1,61
17	Feminino	457	2,38
18	Masculino	368	1,19

¹= Quantidade de vezes acima do Limite Superior da Normalidade (LSN). CK= creatinofosfoquinase. Valor normal da CK considerado= sexo feminino 26 a 192 U/L e sexo masculino 39 a 308 U/L.

ENMG foi realizada em todos os casos, porém realizada por diversos profissionais, muitas vezes externos ao HC-FMUSP. O padrão típico de IBM com potenciais polifásicos à contração leve, potencial de interferência paradoxal à contração máxima, intensa atividade em repouso caracterizada por fibrilações, e presença de potenciais de unidade motora com amplitude aumentada e de longa duração foi encontrado em 12 pacientes (67%). Redução da velocidade de condução sensitiva e/ou motora, excluindo as mononeuropatias compressivas

(por exemplo, síndrome do túnel do carpo, do nervo ulnar no cotovelo e do nervo fibular comum na cabeça da fíbula), foi encontrada em 33% dos casos. O **caso 16** realizou duas ENMG externas ao HC-FMUSP, sendo que a primeira foi laudada como DNM.

Foi realizada eletromiografia de superfície em dois pacientes com queixa de disfagia, sendo uma com achados normais (**caso 5**) e outra com achados normais ao repouso, porém com aumento da contração muscular na musculatura extrínseca laríngea à deglutição da saliva. Tal achado se refere à transição da fase faríngea para a fase esofágica, evidenciando uma disfagia orofaríngea leve a moderada (**caso 4**). Outro paciente, que também tinha disfagia, foi submetido a nasolaringofibrosopia que mostrou refluxo esôfago-laríngeo (**caso 2**).

Na **Tabela 8** estão expostos os achados à RM muscular de quatro pacientes, assim como a topografia de realização e o tempo de instalação dos sintomas da IBM. Em geral, as alterações encontradas foram atrofia, lipossustituição gordurosa e a presença de áreas de edema. Tais achados foram mais intensos na musculatura do MQF e no gastrocnêmio. Em um dos casos, o comprometimento foi maior na parte posterior da coxa (**caso 8**). A **Figura 3** demonstra os principais achados à RM muscular do **caso 11**. Foram realizadas TC abdome/pelve em 7 pacientes e TC de tórax em 8 pacientes sem qualquer achado sugestivo de neoplasia associada.

Tabela 8: Achados à ressonância magnética (RM) muscular em 4 casos com IBM.

Caso	TI	Topografia	Dados
3	50	coxa direita	Hipotrofia e lipossustituição parcial distal do MQF com edema de permeio e pequenas áreas de lipossustituição nos compartimentos medial e posterior da coxa, mais evidente na porção distal do adutor magno. Hipotrofia e lipossustituição parcial das cabeças do gastrocnêmio, e tênue edema do músculo bíceps femoral.
8	84	coxas	Lipossustituição acentuada dos ventres musculares nas coxas, mais evidente nos compartimentos posteriores.
11	112	braços	Atrofia parcial do músculo bíceps braquial direito com lipossustituição parcial e edema. Edema subcutâneo posterior braço direito
	112	antebraços	Edema nos planos gordurosos da região póstero-medial do antebraço direito
	113	coxas	Atrofia e lipossustituição dos músculos do compartimento anterior das coxas, parcial preservação do músculo reto bilateralmente.
	113	pernas	Atrofia acentuada dos músculos sóleo e gastrocnêmio, bilateralmente, com lipossustituição parcial, sem realce pelo contraste. Discreto edema esparso nos planos gordurosos.
12	7	coxas	Edema discreto nas porções distais dos músculos semimembranosos e semitendíneos e moderado nos músculos bíceps femorais. Edema da transição miotendínea distal do músculo vasto lateral da coxa. Achados assimétricos e mais evidentes à direita.
	12	coxas	Focos de edema, associados a discretas áreas de realce pelo contraste nos ventres musculares do sartório, pectíneo, adutores, reto-femoral, porção distal do vasto lateral, grácil, bíceps femoral, semitendíneo e semimembranoso bilateralmente, com algumas áreas de lipossustituição discreta.
	12	pernas	Edema com discretas áreas de realce, acompanhados por áreas de atrofia e lipossustituição acentuada, em diversos grupamentos musculares de ambas as pernas, destacando-se: gastrocnêmios bilaterais, sobretudo mediais, comprometimento de todo grupamento muscular anterior da perna esquerda e de forma tênue do lado direito, assim como do terço distal dos sóleos bilateralmente. Caráter assimétrico e mais evidente à esquerda.

TI= Tempo de instalação. (Tempo em meses decorrente desde o início dos sintomas até a realização da RM).

RM= Ressonância magnética.

Figura 3: Ressonância magnética muscular de um paciente com IBM (**caso 11**). **A=** Quadril / Coxas (Coronal T1): Mostrando atrofia dos músculos e lipossustituição do compartimento anterior. **B=** Coxa direita (Axial STIR): mostrando relativa preservação do músculo reto femoral. **C=** Antebraço direito (Axial T1): observa-se lipossustituição do flexor longo do polegar e flexor profundo dos dedos.

6.3 Biópsia muscular

Todos os pacientes foram submetidos a biópsias musculares no HC-FMUSP ou na UNIFESP/EPM entre 2004 e 2016. Dos 18 casos, sete foram submetidos a dois procedimentos (1a, 1b, 4a, 4b, 5a, 5b 7a, 7b, 10a, 10b, 11a, 11b, 12a e 12b) com intervalos variáveis, totalizando 25 biópsias analisadas dos casos. As informações quanto ao músculo biopsiado, data da biópsia, o serviço onde foi realizada e o diagnóstico histológico inicial estão apresentados na **Tabela 9**.

6.3.1 Análise histológica e histoquímica

Imagens representativas dos achados histológicos e histoquímicos dos casos de IBM, assim como a comparação com os controles são mostradas nas **Figuras 4, 5 e 6**. Todas as biópsias apresentaram preservação do padrão do mosaico. Todas as biópsias dos casos de IBM apresentaram variação do calibre das fibras, a presença de vacúolos marginados (exceto as biópsias 1a, 4a, 7a e 12a), centralização nuclear, infiltrado inflamatório endomisial, aumento da reação para FAC e alterações da citoarquitetura interna das fibras, principalmente a presença de falhas focais. Pouco mais da metade das biópsias apresentaram redução da marcação para COX. Quatro apresentaram RRF e dez apresentaram fibras SDH+. A maioria apresentou sinais de necrose com macrofagia e aumento do tecido conjuntivo endomisial e perimisial (**Tabela 9**).

Os achados das reações do vermelho-Congo estão mostrados na **Tabela 10**. Imagens representativas da reação de vermelho-Congo e comparação com os controles estão mostradas na **Figura 6**. Todos os casos com IBM apresentaram sinalização da presença de acúmulo de beta-amilóide com positividade à reação do vermelho-Congo (**Tabela 10**).

A reação para vermelho-Congo não foi realizada em 4 biópsias: **7a, 10a, 11a e 12a** por falta de material armazenado.

Tabela 9: Dados gerais, histológicos, histoquímicos e acúmulo de amiloide (Vermelho-congo) das biópsias musculares em 18 casos com IBM e em controles.

Caso	Data Biópsia (mês/ano)		Músculo	Número biópsia	Diagnóstico histológico	Variação		Calibre	Degeneração	Necrose	Macrofagia	Vacúolos	Marginais	Fibras atrofiadas	Angulações	Alteração citoquímica	Aumento conjuntivo	Aumento endomysial	confinvo peritendíneo	Infiltração gordurosa	Acúmulo de glicogênio	Centração nuclear	IIE	IPERIM	IPERIV	Aumento reação FAC	Redução marcação COX	SDH+	RRF	Vermelho-congo	
1	a	02/11	DE	10278-EPM	MI	+	A	A	P	A	P	P	P	P	+	+	A	A	+	P	A	A	+	P	P	A	P				
	b	02/13	BBE	4195-HC	IBM	++	P	P	A	P	P	P	P	P	++	++	A	A	+	P	A	A	+	A	P	A	P				
2		09/12	BBE	4073-HC	IBM	++	A	P	A	P	A	P	P	P	++	++	A	A	++	P	P	A	++	A	A	A	P				
3		04/12	VLD	4000-HC	IBM	++	P	P	P	P	P	P	P	P	+	+	A	A	++	P	P	A	++	P	P	P	P				
4	a	09/11	DE	10502-EPM	MI	+	P	P	A	A	A	P	P	P	+	+	A	A	++	P	P	A	++	P	P	A	P				
	b	11/13	VLE	4393-HC	IBM	++	A	P	A	P	A	P	P	P	+	+	A	A	++	P	A	A	+	A	A	A	P				
5	a	12/10	DE	10248-EPM	IBM	+	P	P	P	A	P	P	P	P	++	++	A	A	+	P	A	A	+	P	P	A	P				
	b	06/14	VLE	4499-HC	IBM	+++	A	A	A	P	A	P	P	P	+++	+++	A	A	+	P	A	A	++	P	P	A	P				
6		02/14	VLD	4426-HC	IBM	++	A	A	A	P	A	P	P	P	+	+	A	A	++	P	A	A	++	A	A	A	P				
7	a	10/13	VLE	4383-HC	DIST	+++	A	A	A	A	A	P	P	P	+++	+++	A	A	++	P	A	A	+++	A	A	A	NR				
	b	03/14	BBD	4446-HC	IBM	+++	P	P	P	P	P	P	P	P	++	++	A	A	++	P	A	A	++	P	A	A	P				
8		02/14	BBD	4432-HC	IBM	++	A	A	A	P	A	P	P	P	+	+	A	A	++	P	A	A	++	A	A	A	P				
9		04/10	BBD	3728-HC	IBM	++	P	P	A	P	P	P	P	P	+	+	A	A	+	P	P	P	+	A	A	A	P				
10	a	07/10	VLD	3763-HC	IBM	+	P	A	A	P	A	P	P	P	+	+	A	A	+	P	P	P	+	A	A	A	NR				
	b	09/13	VLD	4371-HC	IBM	+	A	P	A	P	A	P	P	P	+	+	A	A	++	P	P	A	++	P	A	A	P				
11	a	05/04	VLD	2930-HC	IBM	+	P	P	P	P	A	P	P	P	+	+	A	A	+	P	P	P	+	A	A	A	NR				
	b	01/16	BBE	11936-EPM	IBM	+	P	P	P	P	A	P	P	P	A	+	A	A	+	P	A	A	+	P	P	P	P				
12	a	05/12	VLD	4014-HC	MI	+	A	P	A	A	P	A	P	P	A	A	A	A	+	P	A	A	+	A	A	A	NR				
	b	07/12	VLD	4037-HC	IBM	+	P	P	P	P	P	P	P	P	+	+	A	A	++	P	P	A	+	P	A	A	P				
13		10/14	VLD	4560-HC	IBM	++	P	P	P	P	P	P	P	P	++	++	A	A	++	P	A	A	+	P	A	A	P				
14		05/14	VLD	4475-HC	IBM	+	P	P	P	P	P	P	P	P	+	+	A	A	++	P	A	A	++	A	A	A	P				
15		02/15	BBE	4601-HC	IBM	+	P	P	P	P	P	P	P	P	+	+	A	A	+	P	P	A	+	P	A	A	P				
16		10/14	DD	11520-EPM	IBM	+	P	P	P	P	A	P	P	P	+	+	A	A	+	P	A	A	+	P	P	P	P				
17		10/14	DE	11544-EPM	IBM	+	A	A	A	P	P	P	P	P	+	+	A	A	++	P	A	A	+	A	P	A	P				
18		11/14	DD	11544-EPM	IBM	+	P	P	P	P	P	P	P	P	+	+	A	A	+	P	A	A	++	P	P	P	P				
CONTROLES																															
19		05/14	BBE	4471-HC	NL	A	A	A	A	A	A	A	A	A	+	+	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A				
20		03/14	VLD	4453-HC	DM	+	A	A	A	A	P	P	P	P	+	+	A	A	+	P	P	P	++	A	A	A	A				
21		02/14	VLD	4424-HC	DM	++	A	A	A	A	P	P	P	P	++	++	A	A	+	P	P	P	+	A	A	A	A				
22		08/13	VLD	4324-HC	PM	+	A	P	A	A	A	P	A	P	A	A	A	A	+	P	P	A	++	A	A	A	A				
23		08/13	BBE	4318-HC	PM	+	A	P	A	A	A	P	P	P	+	+	A	A	+	P	P	A	+++	A	A	A	A				

M= miosite por corpos de inclusão. MI= miopatia inespecífica. DIST= padrão distrófico. IIE= padrão distrófico. IIE= Infiltrado inflamatório endomysial. IPERIM= Infiltrado inflamatório imisial. IPERIV= Infiltrado inflamatório perivascular. FAC= Fosfatase ácida. COX= citocromo C oxidase. SDH= succinate desidrogenase. RRF= *ragged red fibers*. DD= músculo deltóide direito. DE= músculo deltóide esquerdo. BBE= músculo biceps braquial direito. BBE= músculo biceps braquial esquerdo. VLD= músculo vasto lateral direito. VLE= músculo vasto lateral esquerdo. NL= marcação normal. DM= dermatomiosite. PM= dermatomiosite. A= Ausente. P= Presente. Marcação: leve (+), derada (++) e acentuada (+++). NR= não realizado.

Figura 4: Achados histológicos do tecido muscular esquelético na IBM. Observamos os vacúolos marginados (*rimmed vacuoles*) sinalizados com as setas pretas e o infiltrado inflamatório endomisial marcado pelas setas brancas. Padrão histológico com intenso infiltrado endomisial e perimisial sem a presença de vacúolos marginados no controle (polimiosite). **A e B: caso 4b, C e D: controle (caso 23).** **A)** HE, 400x. **B)** GOM, 400x. **C)** HE, 200x. **D)** GOM, 200x. **GOM**= tricômico de Gomori modificado. **HE**= hematoxilina & eosina.

Figura 5: Achados histológicos do tecido muscular esquelético na IBM. Observam-se mosaico preservado, desarranjo da citoarquitetura com desorganização intermiofibrilar (falhas focais), assim como fibras com redução da COX (setas pretas) em **A, C e E (caso 7b)**. Padrão histológico com falhas focais no controle (polimiosite) (**caso 23**) (**B, D e F**). **A)** SDH, 200x. **B)** SDH, 200x. **C)** NADH-TR, 200x. **D)** NADH-TR, 200x. **E)** COX, 400x. **F)** COX, 200x. **SDH**= succinato desidrogenase. **NADH-TR**= nicotinamide adenine dinucleotide tetrazolium reductase. **COX**= citocromo C oxidase.

Figura 6: Achados histológicos do tecido muscular esquelético na IBM. Observa-se nas imagens **A** e **C** uma intensa marcação com aumento da reação à FAC, permitindo inferir atividade lisossomal aumentada. A **imagem B** mostra claramente depósitos amilóides (**setas brancas**), ausentes nas **imagens E** e **F**. Padrão histológico normal no controle (**E** e **F**). **A e B: caso 6, C e D: caso 23 (polimiosite), E e F: controle saudável (caso 19).** **A)** FAC, 200x. **B)** Vermelho-congo pH alcalino, 400x (filtro *Texas red*). **C)** FAC, 200x. **D)** Vermelho-congo pH alcalino, 400x (filtro *Texas red*). **E)** FAC, 100x. **F)** Vermelho-congo pH alcalino, 200x (filtro *Texas red*). **FAC**= fosfatase ácida.

6.3.2 Análise imunoistoquímica

A análise imunoistoquímica foi realizada utilizando os marcadores **anti-CD68** (marcador de macrófagos), **anti-CD4** e **anti-CD8** (marcadores de linfócitos), além da expressão tecidual de **MHC-I** em todos os casos e controles (**Figuras 7 e 8**). Os dados encontram-se expostos na **Tabela 10**. Todos os casos de IBM apresentaram aumento da marcação para os marcadores inflamatórios. Marcação positiva para todos os controles inflamatórios e negativa para o controle saudável (**Tabela 10**).

Na tentativa de indicar a formação de autofagossomos, para monitorar a autofagia, realizamos marcação com anti-LC3B, com marcação positiva intra-vacuolar em aproximadamente 67% dos casos (n=12), e ausência de marcação nos **casos 6, 9, 12, 14, 17 e 18**, assim como nos controles (**casos 19, 20, 21, 22 e 23**) (**Tabela 10**). Ainda com foco na autofagia, também realizamos marcação com anti-p62/SQSTM1, sugestiva de ser uma das responsáveis pela relação entre os agregados proteicos e a autofagia, com marcação positiva em todos os casos e ausência de marcação nos controles (**Tabela 10**).

Utilizado o anticorpo primário anti- α -sinucleína, com o objetivo de marcar a atividade degenerativa pelo acúmulo desta proteína. O resultado das reações encontra-se exposto na **Tabela 10**, com marcação positiva em cerca de 89% dos casos, e ausência de marcação nos **casos 13 e 17**, e nos controles. Assim como a marcação com anti-*phospo* TDP-43 (anti-TDP-43), também marcador de processo degenerativo (sistema ubiquitina-proteasomo), com positividade em todos os casos com IBM e ausência de marcação nos controles (**Tabela 10**). A positividade para anti-TDP-43 ocorreu predominantemente nos vacúolos, enquanto a positividade para Anti- α -sinucleína ocorreu tanto nos vacúolos, quanto em núcleos de algumas fibras musculares.

As marcações com anti-LC3B, anti- α -sinucleína, anti-p62/SQSTM1 e anti-TDP-43) estão exemplificadas nas **Figuras 9 e 10**. Demonstrada na **Figura 11** a mesma região histológica com a presença de vacúolos marginados e marcação positiva para autofagia (anti-p62/SQSTM1) e degeneração (anti- α -sinucleína).

Foram realizadas reações imunoistoquímicas para proteínas de membrana, utilizando os anticorpos anti- γ -sarcoglicana, anti- α -sarcoglicana, anti-distrofina (*Rod Domain*), anti-disferlina e anti-caveolina-3 nos casos e controles. A marcação foi normal em todos os casos testados.

As reações imunoistoquímicas para autofagia e degeneração não foram realizadas em sua totalidade em 4 biópsias: **7a, 10a, 11a e 12a**, assim como para inflamação em 3 biópsias: **10a, 11a e 12a** por falta de material armazenado.

Tabela 10: Achados imunoistoquímicos das biópsias musculares em 18 casos com IBM e em controles

<i>Caso</i>	<i>CD68</i>	<i>CD4</i>	<i>CD8</i>	<i>MHC-I</i>	<i>LC3B</i>	<i>α-syn</i>	<i>TDP-43</i>	<i>p-62</i>
1 a	++	+	+	+++	P	P	P	P
1 b	++	+	+	+	A	P	P	P
2	+++	+	++	+++	P	P	P	P
3	+++	+	+	++	P	P	P	P
4 a	++	+	+	+++	P	P	P	P
4 b	+++	+	++	+++	P	P	P	P
5 a	++	+	+	++	A	P	P	P
5 b	++	++	++	++	P	P	P	P
6	+++	++	+	++	A	P	P	P
7 a	+	+	+	++	NR	NR	NR	NR
7 b	++	+	++	++	P	P	P	P
8	+++	+	+	+++	P	P	P	P
9	++	+	+	++	A	P	P	P
10 a	NR	NR	NR	NR	NR	P	NR	P
10 b	++	+	++	++	P	P	P	P
11 a	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
11 b	+	+	+	++	P	P	P	P
12 a	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
12 b	++	+	+	+++	A	P	P	P
13	++	+	+	++	P	A	P	P
14	++	+	+	++	A	P	P	P
15	++	+	+++	+++	P	P	P	P
16	++	+	+	+++	P	P	P	P
17	++	+	+	+++	A	A	P	P
18	++	++	++	+++	A	P	P	P
CONTROLES								
19	++	A	A	A	A	A	A	A
20	A	+	+	++	A	A	A	A
21	++	+	+	+	A	A	A	A
22	+	+	+	+++	A	A	A	A
23	++	+	++	+++	A	A	A	A

LC3B= microtubule-associated protein light chain 3. **α-syn**= alfa-sinucleína. **TDP-43**= transactive response DNA binding protein 43 kDa. **P62/SQSTM1**= p62 protein/sequestosome1. **MHC-I**= complexo principal de histocompatibilidade tipo 1. **CD4** e **CD8**= marcação para linfócitos. **CD68**= marcação para macrófagos. **A**= Ausente. **P**= Presente. **NR**= Não realizado. Marcação: leve (+), moderada (++) e acentuada (+++).

Figura 7: Achados imunoistoquímicos com marcadores inflamatórios na musculatura esquelética na IBM. Observa-se acentuada marcação para CD68 (+++), leve marcação para CD4 (+), moderada marcação para CD8 (++), e difusa e acentuada marcação para MHC-I (+++) (**caso 2**). **A)** Anti-CD68, 200x. **B)** Anti-CD4, 200x. **C)** Anti-CD8, 200x. **D)** Anti-MHC-I, 200x. **MHC-I**= complexo principal de histocompatibilidade tipo 1. **CD4** e **CD8**= marcação para linfócitos. **CD68**= marcação para macrófagos.

Figura 8: Achados imunoistoquímicos com marcadores inflamatórios na musculatura esquelética no controle (polimiosite). Observa-se acentuada marcação para CD68 (+++), leve marcação para CD4 (+), moderada marcação para CD8 (++), e acentuada marcação para MHC-I (+++) (**caso 23**). **A)** Anti-CD68, 200x. **B)** Anti-CD4, 200x. **C)** Anti-CD8, 200x. **D)** Anti-MHC-I, 200x. **MHC-I**= complexo principal de histocompatibilidade tipo 1. **CD4** e **CD8**= marcação para linfócitos. **CD68**= marcação para macrófagos.

Figura 9: Achados imunoistoquímicos utilizando anticorpos para marcação de autofagia e atividade degenerativa na musculatura esquelética na IBM. Nas imagens A e D observa-se marcação para autofagia. As imagens B e C mostram acúmulo proteico marcado pelos anticorpos referindo processo degenerativo associado (caso 5b). A) Anti-LC3B, 400x. B) Anti- α -sinucleína, 400x. C) Anti-TDP-43, 400x. D) Anti-p62/SQSTM1, 400x. As setas pretas demonstram as marcações específicas de cada anticorpo. LC3B= *microtubule-associated protein light chain 3*. TDP-43= *transactive response DNA binding protein 43 kDa*. P62/SQSTM1= *p62 protein/sequestosome1*.

Figura 10: Achados imunoistoquímicos utilizando anticorpos para marcação de autofagia e degeneração na musculatura esquelética em controle inflamatório (caso 22). Não houve marcação histológica nas amostras musculares do controle. **A)** Anti-LC3B, 200x. **B)** Anti- α -sinucleína, 200x. **C)** Anti-TDP-43, 200x. **D)** Anti-p62/SQSTM1, 400x. **LC3B**= *microtubule-associated protein light chain 3*. **TDP-43**= *transactive response DNA binding protein 43 kDa*. **P62/SQSTM1**= *p62 protein/sequestosome1*.

Figura 11: Achados histológicos e imunoistoquímicos (anticorpos para marcação de autofagia e degeneração) na musculatura esquelética na IBM. As imagens mostram a mesma região histológica, permitindo observar a presença de vacúolos marginados na mesma região com marcação positiva para autofagia e possível aspecto degenerativo (**caso 10a**). **A)** HE, 400x. **B)** Anti- α -sinucleína, 400x. **C)** GOM, 400x. **D)** Anti-p62/SQSTM1, 400x. **GOM**= tricômico de Gomori modificado. **HE**= hematoxilina & eosina. **P62/SQSTM1**= p62 protein/sequestosome1.

6.4 Comparação entre os principais critérios diagnósticos

Na **Tabela 11**, demonstramos uma análise comparativa dos casos com IBM referente aos principais critérios diagnósticos para IBM. Todos os casos de IBM incluídos neste estudo preencheram os critérios propostos por Griggs em 1995, assim como os critérios diagnósticos do Centro Europeu de Doenças Neuromusculares (ENMC) para IBM de 1997 e do Centro de Doenças Neuromusculares do *Medical Research Council* (MRC) de 2008/2009. Já quando utilizados os critérios diagnósticos propostos pelo Centro Europeu de Doenças Neuromusculares (ENMC) em 2011, três casos (**casos 1, 9 e 10**) não puderam ser incluídos em qualquer classificação, pois iniciaram os sintomas com menos de 45 anos, sendo utilizado o critério modificado para a classificação, ou seja, não considerando a data de início dos sintomas (**Tabela 11**).

Tabela 11: Análise comparativa entre os critérios diagnósticos mais utilizados em 18 pacientes com IBM.

Caso	Griggs, 1995		ENMC, 1997		MRC, 2008/2009			ENMC, 2011 modificado*		
	IBMd	IBMpo	IBMd	IBMpr	IBMpd	IBMcd	IBMpo	IBMcpd	IBMcd	IBMpr
1	X		X		X			X**		
2	X		X		X			X		
3	X		X		X			X		
4	X		X		X			X		
5	X		X		X			X		
6	X		X		X			X		
7	X		X		X			X		
8	X		X		X			X		
9	X		X		X			X**		
10	X		X		X			X**		
11	X		X		X			X		
12	X		X		X			X		
13	X		X		X			X		
14	X		X		X			X		
15	X		X		X			X		
16	X		X		X			X		
17	X		X		X			X		
18	X		X		X			X		

ENMC= *European Neuromuscular Center*. **MRC=** *Medical Research Council*. **IBMd:** IBM definitiva, **IBMpo:** IBM possível, **IBMpr:** IBM provável, **IBMpd:** IBM patologicamente definitiva, **IBMcd:** IBM clinicamente definitiva, **IBMcpd:** IBM clínico-patologicamente definitiva. * Modificado dos critérios do *European Neuromuscular Center* 2011 (**Rose, 2013**), pois os casos identificados com ** iniciaram os sintomas com menos de 45 anos.

7 Discussão

No presente estudo foi avaliado o perfil clínico e anatomopatológico muscular, focado na inflamação, degeneração, autofagia, alterações mitocondriais e atividade lisossomal de pacientes com IBM. Todos os participantes preencheram os critérios diagnósticos clássicos propostos por Griggs, sendo excluídos os casos com história familiar de IBM ou qualquer outra doença neuromuscular (**Griggs, 1995**). Este foi o primeiro estudo latino-americano compreendendo ampla avaliação clínico-histológica, incluindo comparação de critérios diagnósticos em casos confirmados com IBM através de marcadores para autofagia e degeneração muscular.

A IBM predominou no sexo masculino (61% dos casos), achado comum na literatura (**Phillips, 2000; Mastaglia, 2002; Li, 2015**), com início das manifestações clínicas aos 58,8 anos de idade ($\pm 10,9$). Tal fato chama a atenção, pois na literatura, somente 18-20% dos pacientes com IBM desenvolvem os sintomas antes dos 60 anos de idade, enquanto neste estudo 44% apresentaram sintomatologia antes da sexta década de vida, fato também observado recentemente por **Li e cols (2015)**. Além disso, três pacientes (17%) apresentaram sintomas antes dos 45 anos de idade, detalhe que levou estes pacientes a serem os únicos deste estudo a não preencherem os critérios para IBM do *ENMC-2011* publicados em 2013 (**Rose, 2013; Brady, 2013**) no quesito idade, embora tenham preenchido todos os outros quesitos e clínicos e patológicos do mesmo critério. Além do mais, estes três pacientes tiveram o diagnóstico classificado como definido quando utilizados os outros critérios considerados: Griggs-1995, *ENMC-1997* e *MRC-2008/2009* (**Griggs, 1995; Verschuuren, 1997; Badrising, 200; Benveniste, 2010; Hilton-Jones, 2010**). De forma similar e utilizando os critérios de **Griggs**, em um estudo com 30 pacientes brasileiros, a idade no início das manifestações variou de 37 a 79 anos (**Alverne, 2013**).

Descrito recentemente como o critério diagnóstico com maior sensibilidade (90%) e especificidade (96%) (**Lloyd, 2014; Limaye, 2015**), o *ENMC-2011* exclui os pacientes com idade de início inferior a 45 anos (três dos nossos casos), mesmo com a confirmação clínica e anatomopatológica. Desta forma, acreditamos que uma modificação nos critérios do *ENMC-2011*, ou seja, considerando idade > 35 anos e não > 45 anos como na publicação original, aumentaria a sensibilidade diagnóstica para IBM em nosso estudo de 83% para 100%. Fato que ocorreria em diversas séries, inclusive em recente relato chinês que compreendeu um paciente com início dos sintomas aos 38 anos e incluiu no estudo em torno de 11% dos

pacientes entre 40 e 49 anos de idade (**Li, 2015**). Além do mais, estudos recentes analisando e até comparando alterações relacionadas à IBM e à sarcopenia (**Krause, 2015**), além da redução da força muscular, podem sugerir que a patogênese inicia-se muito tempo antes das queixas clínicas, podendo ficar mais evidentes com o envelhecimento.

No nosso estudo, o tempo médio entre o início dos sintomas e o diagnóstico de IBM foi de $7,4 \pm 7,1$ anos. Esses achados salientam, que em nosso meio, assim como descrito na literatura, a IBM foi subdiagnosticada, sendo que 83% dos pacientes ($n= 15$) apresentaram o diagnóstico inicial de miopatia inflamatória. Estes casos foram submetidos a diversos tratamentos medicamentosos comprovadamente ineficazes na IBM, muitas vezes com consideráveis efeitos colaterais e sem benefícios sustentados. Um dos fatores que mais confundem o diagnóstico é o exame de ENMG. Alguns casos de IBM apresentaram laudo com sugestão de miopatia inflamatória, levando possivelmente ao tratamento medicamentoso. Um dos nossos casos foi diagnosticado pela ENMG como miopatia inflamatória, sendo tratado com imunossupressão. Este paciente foi posteriormente reavaliado neurofisiologicamente e alterada a hipótese diagnóstica para doença da neurônio motor (DNM), sendo tratado como tal até o diagnóstico final de IBM, o qual foi feito através da biópsia muscular. Não é rara a dúvida diagnóstica entre DNM e IBM, devido ao quadro motor assimétrico de predomínio distal nos MMSS, disfagia, dispneia, perda ponderal e alguns casos de disфонia, assim como a indefinição diagnóstica na ENMG (**Dabby, 2001**). Apesar de não fazer parte do objetivo deste estudo, notamos que o padrão típico da ENMG foi encontrado em 67% dos casos deste estudo, é um método examinador-dependente e pode muitas vezes atrapalhar no diagnóstico e gerar tratamentos desnecessários. Estudos com ENMG quantitativa poderiam melhorar a sensibilidade do diagnóstico de IBM.

A queixa mais frequente dos pacientes como sintoma inicial foi fraqueza de uma ou mais extremidades, presente em 94% dos nossos casos com IBM. Mais comumente foi relatado acometimento bilateral dos membros inferiores (39%), seguido por fraqueza incapacitante nos 4 membros (28%) e fraqueza inicial em um dos membros inferiores (17%). Um paciente iniciou o quadro com disfagia, outro com fraqueza simultânea nos membros superiores e um último com fraqueza inicial em apenas um dos membros superiores. Tal predileção pela fraqueza proximal da musculatura dos membros inferiores está clara na literatura (**Alverne, 2013; Li, 2015**).

Outra queixa frequente dos pacientes (72%) foi relacionada à instabilidade postural durante a marcha e às quedas da própria altura, muitas vezes interpretadas como alteração do

equilíbrio, sendo que pouco menos da metade apresentaram como sintoma precoce, queixa não sinalizada uniformemente na literatura até o momento. Outros sintomas relevantes foram a presença de disfagia (67%), perda ponderal (50%) e a presença de sintomas depressivos (33%), estes últimos antecedendo, ou acompanhando o início dos sintomas clássicos de IBM, sendo que todos responderam bem à administração oral de escitalopram, fato que chama a atenção para outra similaridade com doenças neurodegenerativas, como DA e DP, podendo até surgir antes das outras queixas. A presença de disfagia e quedas da própria altura não apresentaram relação estatisticamente significativa com a idade de início e com o tempo de evolução da doença. A presença de sintomas depressivos e a perda ponderal predominou no primeiro ano após o início dos sintomas. Não foi possível avaliar a relevância estatística quanto à queixa de dispneia, pois os pacientes apresentavam comorbidades que limitaram tal avaliação. Futuramente, a análise de um maior número de pacientes poderá adicionar dados que apresentem significância estatística.

A principal comorbidade associada à IBM foi a HAS (72%), sendo possivelmente agravada em alguns casos pelos efeitos colaterais dos medicamentos prescritos previamente, principalmente os corticosteróides orais. Aproximadamente 22% dos pacientes apresentaram diabetes mellitus do tipo 2, osteopenia / osteoporose, dislipidemia e hiperuricemia/gota, sendo alguns destes também exacerbados pela terapêutica medicamentosa. A presença de grande número de comorbidades nestes casos indica a necessidade de cuidados adicionais ao prescrever medicamentos imunossupressores; da mesma forma decisão precisa quanto a suspensão dos medicamentos ao se notar a falta de resposta clínica.

É interessante notar que apesar da relação descrita entre IBM e a positividade sérica para anticorpos contra o vírus da hepatite C em estudos japoneses, chegando até 28% dos casos, nenhum dos pacientes desta série apresentava sorologia positiva para hepatite C (**Kase, 2001; Tsuruta, 2001; Uruha, 2016**). Em outro estudo brasileiro, com 30 pacientes com IBM, um paciente tinha sorologia positiva para o vírus da hepatite C e dois para HIV (**Alverne, 2013**). Assim como relato de **Freitas e cols (2008)** que relataram caso com a coexistência de IBM e infecção pelo HIV e **Cupler e cols (1996)** que relataram dois casos com essa associação. No nosso estudo, apenas um caso apresentou positividade sorológica viral para HTLV-I, fato também relatado em um paciente americano (**Cupler, 1996**) e outro desenvolveu herpes-zoster durante o curso da doença e tratamento imunossupressor.

Embora a IBM possa apresentar-se como uma condição paraneoplásica, ou coexistindo com ela, apenas um caso apresentava antecedente pessoal de carcinoma espinocelular em face

não-recidivado até a última avaliação. Em outro estudo brasileiro, com 30 pacientes com IBM, quatro tiveram concomitantemente neoplasias, sendo dois com carcinoma de próstata, um com adenocarcionama folicular de ovário e um com adenocarcionama de mama (**Alverne et al., 2013**).

Um caso do nosso estudo apresentava um antecedente interessante de sarcoidose pulmonar em 1979, a qual foi tratada na ocasião e permanecendo assintomático até então. Este paciente desenvolveu os sintomas iniciais da IBM após cerca de 30 anos do evento pulmonar, porém com ausência de achados granulomatosos à biópsia muscular. Casos como este são raros, porém foram já descritos na literatura (**Danon, 1986; Bouillot, 2001; Vattemi, 2008; Larue, 2011; Sanmaneechai, 2015**). Assim como questionado na literatura, o paciente pode apresentar uma coincidência, ou a sarcoidose pode por mecanismo imuno-mediado promovendo o desenvolvimento da IBM. Outro paciente da nossa casuística apresentou diagnóstico anátomopatológico de lúpus eritematoso túbido – infiltração linfocitária de Jessner à biópsia de pele – sem evidências de lúpus eritematoso sistêmico, situação não descrita na literatura até o momento.

Caracterizamos o padrão de comprometimento muscular nos pacientes com IBM como tetraparesia de predomínio proximal em membros inferiores (músculos quadríceps femoral e flexores da coxa) e distal em membros superiores (músculos flexores dos punhos e dedos das mãos), fato concretizado na literatura (**Griggs, 1995; Dalakas, 2006; Engel, 2006**). Houve também um comprometimento significativo dos músculos bíceps braquial, tríceps braquial, iliopsoas, extensores das coxas e flexores das pernas. Pouco mais da metade dos pacientes apresentava acometimento da musculatura flexora do pé, sendo vistos mais comumente nas fases mais avançadas da doença, embora 17% dos pacientes apresentaram fraqueza em um dos membros inferiores como sintoma inicial. Tal comprometimento muscular corresponde ao padrão tipicamente descrito na IBM, inclusive fazendo parte dos critérios diagnósticos clínicos.

Apenas um paciente apresentava fraqueza da musculatura abdominal, de predomínio no andar inferior bilateral e a presença de desvio da cicatriz umbilical para cima durante a avaliação do reflexo cutâneo-abdominal bilateralmente, também chamado de Sinal de Beevor e descrito recentemente também em um caso de IBM (**Sugie, 2015**).

Apesar de não ser objetivo deste estudo, uma análise retrospectiva das terapêuticas imunossupressoras utilizadas em alguns dos casos não parece ter influenciado significativamente no declínio motor e piora sintomática geral, embora quatro pacientes com

IBM desta série apresentaram melhora, porém não sustentada. Um paciente apresentou melhora motora discreta, porém com duração menor que 6 meses, após 10 doses de Abatacepte. Dois pacientes apresentaram melhora sintomática após metilprednisolona endovenosa, sendo 1 com melhora motora não sustentada com duração inferior a 6 meses e outro com melhora parcial da disfagia com duração inferior a 12 meses. Outro paciente recebeu metilprednisolona endovenosa por 2 dias, seguida de IGIV por 2 dias e também apresentou melhora motora discreta com piora após 6 meses. Outro paciente apresentou grande redução nos valores séricos de CK durante o uso de prednisona e posteriormente com a associação de metotrexato e azatioprina, porém sem qualquer melhora clínica. Além do caso descrito com melhora motora parcial e não sustentada, outros dois pacientes receberam IGIV sem qualquer mudança no quadro clínico e/ou efeitos colaterais. Recente publicação avaliou 6 pacientes submetidos ao tratamento com imunoglobulina humana subcutânea e todos apresentaram melhora na força muscular e resolução da disfagia, sendo que quatro voltaram a piorar antes de 12 meses, e outros dois após 12 meses (**Cherin, 2015**).

No nosso estudo não pareceu haver relação entre o grau de comprometimento das AVD e o grau de dependência, e a idade de início dos sintomas, ou tempo de instalação da doença.

Todos os pacientes com IBM apresentaram elevação dos valores séricos de CK, mas com níveis inferiores a 10 vezes o LSN (abaixo dos limites propostos nos critérios diagnósticos) (**Griggs, 1995; Rose, 2013; Brady, 2013**).

Com relação ao exame de RM muscular de pacientes com IBM há vários estudos mostrando alterações bastante características. **Tasca e cols** em **2015** propuseram a classificação das alterações em padrão típico e padrão consistente. O **padrão típico** é caracterizado por: infiltração de gordura e atrofia de ambos os MQF na porção distal, particularmente envolvendo os músculos vasto medial e intermédio, dando assim uma aparência de "fusão". Também é frequente o acometimento do músculo sartório e eventual do músculo grácil. Sinal de anormalidade nas imagens ponderadas em T1 também pode envolver completamente os MQF, mas eles muitas vezes seguem um gradiente distal-proximal, que é melhor apreciado em cortes coronais, geralmente acompanhada de hipersinal nas sequências STIR nas áreas de liposubstituição distal do MQF. O compartimento anterior é sempre mais acometido do que o compartimento posterior na porção distal da coxa. Tais achados determinam uma sensibilidade diagnóstica de 95% para IBM definitiva e com especificidade de 100%. No **padrão consistente**, na perna o músculo mais acometido é o gastrocnêmio

medial, com menor envolvimento da musculatura pélvica em comparação à musculatura da coxa. Quando considerados os dois padrões, a sensibilidade é de 94% e a especificidade 97%. Tal fato torna a RM uma ferramenta importante pela alta sensibilidade, podendo ser particularmente útil em pacientes com doença precoce ou que não têm a forma clássica de IBM (**Tasca, 2015**). Por não fazer parte do objetivo deste trabalho e pela pouca disponibilidade de informação, não conseguimos traçar um perfil radiológico (RM) da IBM, porém observamos acometimento importante da musculatura do compartimento anterior da coxa nos quatro casos relatados, sendo que um poupava o músculo reto medial da coxa, assim como eventual acometimento do músculo sartório e grácil. Em dois casos, apesar de maior acometimento clínico da musculatura do compartimento anterior das coxas, foram observadas maiores alterações nos músculos da face posterior das coxas à RM. Também observamos acometimento frequente do músculo gastrocnêmio, sobretudo medial e em um caso dos músculos sóleos. Embora não citadas as alterações nos membros superiores no estudo de Tasca e cols (2015), notamos acometimento do bíceps braquial e compartimento pósteromedial dos antebraços com a presença de atrofia, edema muscular e subcutâneo, assim como liposs substituição em um dos casos.

Em nossa série, sete casos foram submetidos a dois procedimentos de biópsia muscular, sendo que três deles foram rebiópsiados no próprio HC-FMUSP (**casos 7, 10 e 12**), sendo os **casos 7 e 12** por falta de diagnóstico e o **caso 10** por motivo desconhecido, pois já apresentava diagnóstico de IBM na primeira biópsia. Um caso fazia seguimento ambulatorial com neurologista externo e foi submetido a novo procedimento por motivo desconhecido (**caso 11**). Outros três casos apresentavam biópsias realizadas na UNIFESP (**casos 1, 4 e 5**), sendo dois por falta de diagnóstico histológico e um por motivo desconhecido. As principais limitações relacionadas à necessidade de realização de novo procedimento estiveram relacionadas à escolha do local a ser biopsiado e procedimento realizado por punção ao invés da técnica a céu aberto. O intervalo entre as biópsias do mesmo paciente variou de 2 meses a 12 anos. Três casos foram submetidos inicialmente à biópsia no músculo deltóide, sendo que dois deles não apresentavam alteração de força neste músculo. O melhor local para a biópsia muscular, quando não guiada por exame de imagem, é o músculo com a combinação de comprometimento da força sem acentuada atrofia. Embora recente relato com dificuldade diagnóstica tenha permanecido sem diagnóstico após duas biópsias no músculo bíceps braquial e encontrou sucesso no diagnóstico de IBM após biópsia no músculo deltóide (**Correia, 2014**), não consideramos um bom músculo para a pesquisa, pois cerca de 56% dos

pacientes do nosso estudo apresentaram fraqueza neste músculo, sendo que 33% destes permaneceu sem diagnóstico após biópsia neste sítio. Outras limitações notadas foram a tentativa de diagnóstico externo em parafina, método este não adequado para a análise histopatológica muscular e o tempo entre o início dos sintomas e a biópsia muscular. Embora o método por punção muscular seja um bom método e amplamente utilizado, sendo eventualmente guiado por imagem, este apresentou limitação em um dos casos deste estudo pela pouca quantidade de material a ser analisado e consequente ausência de vacúolos, sendo necessária nova biópsia. Estudo recente com participação do HC-FMUSP analisou a incidência de complicações associadas à biópsia muscular percutânea, incluindo 4 casos com diagnóstico de IBM, concluindo ser rara e com pouca relevância clínica, sendo que as mais comuns foram dor (1,27%), eritema (1,27%) e equimoses (1,27%) (Neves, 2012).

Do ponto de vista histológico, todos os casos com IBM apresentaram padrão de distribuição dos tipos de fibras preservado com alterações distróficas variáveis, além da presença de inflamação endomisial e eventualmente perimisial, assim como a ocorrência de vacúolos marginados e aumento da marcação para fosfatase ácida (alteração da função lisossomal). Outros achados histológicos relevantes foram a presença de alterações mitocondriais (83%), sendo com maior frequência a presença de redução na marcação para COX, ou fibras COX-negativas, seguidas de fibras SDH-positivas e RRF (*ragged red fibers*). A presença de acúmulo beta-amilóide foi demonstrada pela positividade na reação para vermelho-Congo em todos os casos com IBM. Todos os casos com IBM e controles inflamatórios apresentaram positividade para os marcadores inflamatórios (anti-CD68, anti-CD4, anti-CD8 e MHC-I) não auxiliando na diferenciação entre eles. Já quando utilizados os marcadores de degeneração e de ativação da autofagia, houve positividade em todos os casos com IBM e nenhuma marcação nos controles inflamatórios, mostrando-se um método muito específico para o diagnóstico de IBM, principalmente os anticorpos anti-p62/SQSTM1 (autofagia) e anti-*phospho* TDP-43 (degeneração), ambos com marcação predominantemente vacuolar, com marcação positiva em todos os casos com IBM. Como demonstrado por Askanas & Engel (2011), a imuno-marcação com p62 está relacionada cada vez mais aos processos iniciais da patogenia da IBM, demonstrando o envolvimento do acúmulo de p-tau nas fases precoces, tornando o nosso achado da presença de marcação para p62 em todos os casos com IBM, um forte indício de que este é um bom marcador.

Como principal achado histológico deste estudo, notamos a positividade do vermelho-Congo, anti-p62/SQSTM1 e anti-*phospho* TDP-43 com sensibilidade diagnóstica de 100% nos

casos com IBM. A utilização de anticorpos para marcação de degeneração e autofagia apresentam elevado custo, porém evitariam um custo elevado de um, ou mais tratamentos pelo diagnóstico preciso.

Até o momento, somente uma série epidemiológica de pacientes com IBM foi descrita no Brasil (**Alverne, 2013**), porém com enfoque estritamente clínico e com a avaliação apenas dos dados presentes nos prontuários dos casos, fatores estes que podem explicar algumas das diferenças encontradas em relação ao nosso estudo e à literatura, como a falta de predomínio pelo sexo masculino, e o tempo médio entre o início dos sintomas e o diagnóstico de IBM que ficou ao redor de 2,25 anos. Nossa análise mostrou 67% dos pacientes com disfagia, enquanto no estudo citado, apenas 30% apresentavam como sintoma inicial. Publicação de **Li e cols (2015)** com 28 pacientes com IBM encontrou disfagia em apenas 7% dos pacientes. Chamamos a atenção para o fato de que esta queixa deve ser questionada ativamente ao paciente, pois grande parte deles não nota a dificuldade para deglutição, podendo justificar a baixa incidência em outras séries. No trabalho de **Alverne e cols** apenas 13% dos pacientes apresentaram perda ponderal sem causa aparente, enquanto cerca de 40% dos casos deste estudo evoluíram com perda de peso, excluindo-se dois casos com causa bem definida. Nosso trabalho mostrou cerca de 10 vezes mais queixas de dispneia quando comparado à série de casos em questão. Outro fato citado, deve-se à estabilidade clínica e laboratorial de doze pacientes ainda em seguimento em uso de corticosteroides e/ou imunossupressores, fato que não encontramos em nosso estudo, tanto com a prednisona, quanto com qualquer outra terapêutica empregada, embora este não seja o foco de ambos os estudos, assim como foram análises retrospectivas e sujeitas ao viés de interpretação dos próprios pacientes. As similaridades entre os estudos foram encontradas na média de idade do início dos sintomas, no predomínio nos indivíduos de cor branca e nas principais duas comorbidades encontradas, como HAS e diabetes mellitus, embora na nossa série tais comorbidades estiveram presentes com maior frequência, além do principal sintoma referido como fraqueza bilateral dos membros inferiores. Outro estudo brasileiro da década de noventa avaliou 16 casos com biópsias musculares contendo corpos de inclusão citoplasmáticos, dos quais apenas 25% tratavam-se de IBM (**Scola, 1996**). Recentemente, **Correia e cols** relataram um caso com dificuldade diagnóstica de IBM (**Correia, 2014**).

A avaliação da evolução natural da doença nos sete casos submetidos à biópsia não foi possível devido aos tratamentos realizados previamente à segunda biópsia e à falta de material para realização de imunoistoquímica para autofagia e degeneração em seis casos. No caso 7

houve aumento da marcação na imunoistoquímica para CD68 e CD8 (anticorpos de atividade inflamatória).

7.1 Considerações finais

O desenvolvimento de técnicas que possibilitem um diagnóstico precoce e preciso da IBM com avaliação de marcadores séricos e exames de imagem muscular será importante para reduzir a necessidade de realização de exames mais invasivos, como a biópsia muscular, mas esta ainda parece ser uma realidade distante. Por enquanto, o padrão ouro para o diagnóstico permanece sendo a biópsia muscular, com associação ao quadro clínico típico.

Outro fato importante a ser considerado é quando interromper o tratamento medicamentoso dos casos com IBM, já que não há evidência de eficácia até o presente, podendo gerar, ou agravar, as principais comorbidades observadas nos pacientes, principalmente em idades mais avançadas.

Além disso, a avaliação da eficácia de possíveis tratamentos futuros para as doenças degenerativas, como IBM, DA, DP, ELA e demência frontotemporal, pois apresentam fisiopatologia similar, será melhor avaliada nos casos de IBM, pela facilidade de acesso ao exame físico e biópsia muscular em relação aos testes cognitivos complexos e sujeitos a maior viés, assim como a biópsia com topografia no sistema nervoso central.

Nosso estudo avaliou pacientes com um quadro clínico bem estabelecido e preenchendo todos os critérios clínicos descritos até o momento. Estudos futuros com pacientes nas fases precoces da doença, ou com sintomas inespecíficos, utilizando os mesmos marcadores, poderiam demonstrar a sua sensibilidade no diagnóstico precoce da doença.

8 Conclusões

1. O presente estudo nos permitiu concluir que a IBM parece predominar no sexo masculino e em indivíduos de cor branca; e tende a apresentar média do início dos sintomas pouco antes da sexta década de vida.
2. Os sintomas iniciais e as principais manifestações clínicas da IBM incluem fraqueza proximal dos membros inferiores e da musculatura flexora distal dos membros superiores, em sua maioria acompanhada de disfagia, perda ponderal no início do quadro e com frequentes quedas da própria altura, podendo ainda apresentar dispneia.
3. Os achados histológicos musculares na IBM incluem presença de distribuição dos diferentes tipos de fibras preservada, com alterações distróficas variáveis, além da presença de inflamação endomisial, assim como a ocorrência de vacúolos marginados.
4. Alterações mitocondriais são frequentes nas biópsias musculares de pacientes com IBM.
5. Outros achados histológicos musculares característicos na IBM incluem o aumento da atividade lisossomal (aumento global da marcação para fosfatase ácida), a presença de marcação positiva para beta-amilóide (marcação intra-vacuolar pelo vermelho-Congo), o aumento na degradação muscular (relacionada com ativação de LC3B, p-tau, e p62/SQSTM1) e a degeneração muscular (marcação para anti-*phospho* TDP-43 e para α -sinucleína). Tais alterações apresentam alta sensibilidade e especificidade, o que torna essas análises complementares importantes para um diagnóstico patológico mais preciso.
6. A alteração dos Critérios diagnósticos do *European Neuromuscular Centre* (ENMC) para IBM – 2011 com a redução do critério idade do início dos sintomas de maior de 45 anos para maior de 35 anos, aumentaria a sensibilidade diagnóstica para IBM de 83% para 100% segundo o presente estudo.

9 Referências bibliográficas

Abeliovich A, Schmitz Y, Fariñas I, Choi-Lundberg D, Ho WH, Castillo PE, Shinsky N, Verdugo JMG, Armanini M, Ryan A, Hynes M, Phillips H, Sulzer D, Rosenthal A. Mice Lacking α -Synuclein Display Functional Deficits in the Nigrostriatal Dopamine System. *Neuron*. (2000);25(1):239–252.

Alverne AR, Marie SK, Levy-Neto M, de Souza FH, de Carvalho MS, Shinjo SK. Inclusion body myositis: series of 30 cases from a Brazilian tertiary center. *Acta Reumatol Port*. (2013);38(3):179-185.

Amato AA, Barohn RJ. Inclusion body myositis: old and new concepts. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. (2009);80(11):1186–1193.

Amato AA, Sivakumar K, Goyal N, David WS, Salajegheh M, Praestgaard J, Lach-Trifilieff E, Trendelenburg AU, Laurent D, Glass DJ, Roubenoff R, Tseng BS, Greenberg SA. Treatment of sporadic inclusion body myositis with bimagrumab. *Neurology* (2014);83(24):2239-2246.

Arnardottir S, Alexanderson H, Lundberg IE, Borg K. Sporadic inclusion body myositis: pilot study on the effects of a home exercise program on muscle function, histopathology and inflammatory reaction. *J Rehabil Med* (2003);35(1):31–35.

Askanas V, Engel WK, Alvarez RB. Enhanced detection of congo-red-positive amyloid deposits in muscle fibers of inclusion body myositis and brain of Alzheimer's disease using fluorescence technique. *Neurology*. (1993);43(6):1265-7.

Askanas V, McFerrin J, Baqué S, Alvarez RB, Sarkozi E, Engel WK. Transfer of beta-amyloid precursor protein gene using adenovirus vector causes mitochondrial abnormalities in cultured normal human muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A*. (1996);93(3):1314-1319.

Askanas V, Engel WK. Inclusion-body myositis: muscle-fiber molecular pathology and possible pathogenic significance of its similarity to Alzheimer's and Parkinson's disease brains. *Acta Neuropathol*. (2008);116:583–595.

Askanas V, Engel WK. Sporadic inclusion-body myositis: Conformational multifactorial ageing-related degenerative muscle disease associated with proteasomal and lysosomal

inhibition, endoplasmic reticulum stress, and accumulation of amyloid- β 42 oligomers and phosphorylated tau. *Presse Med.* **(2011)**;40:e219–e235.

Askanas V, Engel WK, Nogalska A. Sporadic inclusion-body myositis: A degenerative muscle disease associated with aging, impaired muscle protein homeostasis and abnormal mitophagy. *Biochim Biophys Acta.* **(2015)**;1852(4):633-643.

Badrising UA, Maat-Schieman ML, van Houwelingen JC, et al. Inclusion body myositis. Clinical features and clinical course of the disease in 64 patients. *Neurology.* **(2005)**;252(12):1448–1454.

Badrising UA, Maat-Schieman M, van Duinen SG, Breedveld F, van Doorn P, van Engelen B, van den Hoogen F, Hoogendijk J, Höweler C, de Jager A, Jennekens F, Koehler P, van der Leeuw H, de Visser M, Verschuuren JJ, Wintzen AR. Epidemiology of inclusion body myositis in the Netherlands: a nationwide study. *Neurology.* **(2000)**;55:1385-1387.

Banwell BL, Engel AG. AlphaB-crystallin immunolocalization yields new insights into inclusion body myositis. *Neurology.* **(2000)**;54(5):1033-1041.

Barohn RJ, Amato AA, Sahenk Z, Kissel JT, Mendell JR. Inclusion body myositis: explanation for poor response to immunosuppressive therapy. *Neurology.* **(1995)**;45(7):1302-1304.

Bechet D, Tassa A, Taillandier D, Combaret L, Attaix D. Lysosomal proteolysis in skeletal muscle. *Int J Biochem Cell Biol.* **(2005)**;37(10):2098-2114.

Benveniste O, Hilton-Jones D. International Workshop on Inclusion Body Myositis held at the Institute of Myology, Paris, on 29 May 2009. *Neuromuscul Disord.* **(2010)**;20(6):414-421.

Benveniste O, Guiguet M, Freebody J, Dubourg O, Squier W, Maisonobe T, Stojkovic T, Leite MI, Allenbach Y, Herson S, Brady S, Eymard B, Hilton-Jones D. Long-term observational study of sporadic inclusion body myositis. *Brain.* **(2011)**;134:3176-3184.

Bjørkøy G, Lamark T, Brech A, Outzen H, Perander M, Øvervatn A, Stenmark H, Johansen T. p62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death. *J Cell Biol.* **(2005)**;171(4):603-614.

Bjørkøy G, Lamark T, Johansen T. p62/SQSTM1: missing link between protein aggregates and the autophagy machinery. *Autophagy.* **(2006)**;2(2):138-139.

Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N Engl J Med.* (1975-a);292(7):344-347.

Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (second of two parts). *N Engl J Med.* (1975-b);292(8):403-407.

Bouillot S, Coquet M, Ferrer X, Lagueny A, Leroy JP, Vital C. Association myosite à inclusions et sarcoïdose: à propos de trois cas. *Ann Pathol.* (2001);21(4):334-336.

Brady S, Squier W, Hilton-Jones D. Clinical assessment determines the diagnosis of inclusion body myositis independently of pathological features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* (2013);84:1240-1246.

Brady S, Squier W, Sewry C, Hanna M, Hilton-Jones D, Holton JL. A retrospective cohort study identifying the principal pathological features useful in the diagnosis of inclusion body myositis. *BMJ Open.* (2014);4(4):e004552. doi: 10.1136/bmjopen-2013-004552.

Brandão M, Marinho A. Idiopathic inflammatory myopathies: Definition and management of refractory disease. *Autoimmun Rev.* (2011);10(11):720-724.

Brannagan TH, Hays AP, Lange DJ, Trojaborg W. The role of quantitative electromyography in inclusion body myositis. *J. Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry.* (1997);63:776-779.

Breithaupt M, Schmidt J. Update on treatment of inclusion body myositis. *Curr Rheumatol Rep.* (2013);15:329.

Caliandro P, Mirabella M, Padua L, Simbolotti C, Fino CD, Iacovelli C, Sancricca C, Rossini PM. Idiopathic inflammatory myopathies evaluated by near-infrared spectroscopy. *Muscle Nerve.* (2015);51(6):830-837.

Carelli V, Maresca A, Caporali L, Trifunov S, Zanna C, Rugolo M. MITOCHONDRIA: Biogenesis and mitophagy balance in segregation and clonal expansion of mitochondrial DNA mutations. *Int J Biochem Cell Biol.* (2015); doi: 10.1016/j.biocel.2015.01.023.

Carpenter S, Karpati G, Wolfe L. Virus-like filaments and phospholipid accumulation in skeletal muscle. Study of a histochemically distinct chronic myopathy. *Neurology.* (1970);20(9):889-903.

Catalán-García M, Garrabou G, Morén C, Guitart-Mampel M, Gonzalez-Casacuberta I, Hernando A, Gallego-Escuredo J, Yubero D, Villaroya F, Montero R, O-Callaghan AS, Cardellach F, Grau J. BACE-1, PS-1 and sAPP β levels are increased in plasma from sporadic inclusion body myositis patients: surrogate biomarkers among inflammatory myopathies. *Mol Med*. (2015); doi: 10.2119/molmed.2015.00168.

Cherin P, Delain JC, de Jaeger C, Crave JC. Subcutaneous Immunoglobulin Use In Inclusion Body Myositis: A Review of 6 Cases. *Case Rep Neurol*. (2015);7(3):227-32.

Ching JK, Elizabeth SV, Ju JS, Lusk C, Pittman SK, Weihl CC. mTOR dysfunction contributes to vacuolar pathology and weakness in valosin-containing protein associated inclusion body myopathy. *Hum Mol Genet*. (2013);22(6):1167-1179.

Chou, SM. Inclusion body myositis: A chronic persistent mumps myositis?. *Human Pathology*. (1986);17(8):765-777.

Correia CC, Magalhães MCO, Barbosa PLM, Campos ED, Zanoteli E. *J Bras Patol Med Lab*. (2014);50(5):364-366.

Cupler EJ, Leon-Monzon M, Miller J, Semino-Mora C, Anderson TL, Dalakas MC. Inclusion body myositis in HIV-1 and HTLV-1 infected patients. *Brain*. (1996);119(Pt 6):1887-1893.

Dabby R, Lange DJ, Trojaborg W, Hays AP, Lovelace RE, Brannagan TH, Rowland LP. Inclusion body myositis mimicking motor neuron disease. *Arch Neurol*. (2001);58(8):1253-6.

Dalakas M. Polymyositis, dermatomyositis, and inclusion-body myositis. *N Engl J Med*. (1991);325:1487-1498.

Dalakas MC. Muscle biopsy findings in inflammatory myopathies. *Rheum Dis Clin North Am*. (2002);28(4):779–798,vi.

Dalakas MC. Sporadic inclusion body myositis--diagnosis, pathogenesis and therapeutic strategies. *Nat Clin Pract Neurol*. (2006);2(8):437–447.

Dalakas MC, Rakocevic G, Schmidt J, Salajegheh M, McElroy B, Harris-Love MO, Shrader JA, Levy EW, Dambrosia J, Kampen RL, Bruno DA, Kirk AD. Effect of Alemtuzumab (CAMPATH 1-H) in patients with inclusion body myositis. *Brain*. (2009);132(Pt 6):1536-1544.

Dalakas MC. Inflammatory muscle diseases: a critical review on pathogenesis and therapies. *Curr Opin Pharmacol.* **(2010)**;10(3):346-52.

Dalakas MC. Pathophysiology of inflammatory and autoimmune myopathies. *Presse Med.* **(2011-a)**;40(4 Pt 2):e237-e247.

Dalakas MC. Review: An update on inflammatory and autoimmune myopathies. *Neuropathol Appl Neurobiol.* **(2011-b)**;37(3):226-242.

Dalakas MC. Pathogenesis and therapies of immune-mediated myopathies. *Autoimmun Rev.* **(2012)**;11(3):203-206.

Dankó K, Ponyi A, Constantin T, Borgulya G, Szegedi G. Long-term survival of patients with idiopathic inflammatory myopathies according to clinical features: a longitudinal study of 162 cases. *Medicine (Baltimore).* **(2004)**;83(1):35-42.

Danon MJ, Perurena OH, Ronan S, Manaligod JR. Inclusion body myositis associated with systemic sarcoidosis. *Can J Neurol Sci.* **(1986)**;13(4):334-336.

Dimachkie MM, Barohn RJ. Inclusion Body Myositis. *Curr Neurol Neurosci Rep.* **(2013)**;13(1):321. doi: 10.1007/s11910-012-0321-4.

Dimachkie MM. Idiopathic inflammatory myopathies. *J Neuroimmunol.* **(2011)**;231(1-2):32-42.

Dobloug C, Walle-Hansen R, Gran JT, Molberg Ø. Long-term follow-up of sporadic inclusion body myositis treated with intravenous immunoglobulin: a retrospective study of 16 patients. *Clin Exp Rheumatol.* **(2012)**;30(6):838-842.

Dubowitz V. Histological and Histochemical Stains and Reactions. In: Dubowitz V, Sewry CA, Oldfors A. 4a edição. *Muscle biopsy: A Practical Approach.* Philadelphia, Saunders Elsevier. **(2013)**:16-27.

Engel WK, Cunningham GG. Rapid examination of muscle tissue. An improved trichrome method for fresh-frozen biopsy sections. *Neurology.* **(1963)**;13:919-923.

Engel WK, Askanas V. Inclusion-body myositis: clinical, diagnostic, and pathologic aspects. *Neurology.* **(2006)**;66 (2 Suppl 1):S20–S29.

França MC Jr, Faria AV, Queiroz LS, Nucci A. Myositis with sensory neuronopathy. *Muscle Nerve*. (2007);36(5):721-725.

Freitas MR, Neves MA, Nascimento OJ, de Mello MP, Botelho JP, Chimelli L. Inclusion body myositis and HIV infection. *Arq Neuropsiquiatr*. (2008);66(2B):428-430.

Furuno K, Goodman MN, Goldberg AL. Role of different proteolytic systems in the degradation of muscle proteins during denervation atrophy. (1990);265(15):8550-8557.

Gang Q, Bettencourt C, Machado PM, Fox Z, Brady S, Healy E, Parton M, Holton JL, Hilton-Jones D, Shieh PB, Zanuteli E, De Paepe B, De Bleecker J, Shaibani A, Ripolone M, Violano R, Moggio M, Barohn RJ, Dimachkie MM, Mora M, Mantegazza R, Zanotti S, Hanna MG, Houlden H; Muscle Study Group and the International IBM Genetics Consortium. The effects of an intronic polymorphism in TOMM40 and APOE genotypes in sporadic inclusion body myositis. *Neurobiol Aging*. (2015);36(4):1766.e1-3.

Glabe CG, Kaye R. Common structure and toxic function of amyloid oligomers implies a common mechanism of pathogenesis. *Neurology*. (2006);66(2 Suppl 1):S74-S78.

Goyal NA, Cash TM, Alam U, Enam S, Tierney P, Araujo N, Mozaffar FH, Pestronk A, Mozaffar T. Seropositivity for NT5c1A antibody in sporadic inclusion body myositis predicts more severe motor, bulbar and respiratory involvement. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. (2015);0-1-6. doi:10.1136/jnnp-2014-310008.

Grandis M, Gulli R, Cassandrini D, Gazzerri E, Benedetti L, Narciso E, Nobbio L, Bruno C, Minetti C, Bellone E, Reni L, Mancardi GL, Mandich P, Schenone A. The spectrum of GNE mutations: allelic heterogeneity for a common phenotype. *Neurol Sci* (2010);31:377–380.

Greenberg SA. Theories of the Pathogenesis of Inclusion Body Myositis. *Curr Rheumatol Rep*. (2010);12(3):221-228.

Greenberg SA. Cytoplasmic 5'-nucleotidase autoantibodies in inclusion body myositis: Isotypes and diagnostic utility. *Muscle Nerve*. (2014);50(4):488-492.

Griggs RC, Askanas V, DiMauro S, Engel A, Karpati G, Mendell JR, Rowland LP. Inclusion body myositis and myopathies. *Ann Neurol*. (1995);38(5):705-713.

Hengstman GJD, van Brenk L, Vree Egberts WTM, van der Kooi EL, Borm GF, Padberg GWAM, van Venrooij WJ, van Engelen BGM. High specificity of myositis specific

autoantibodies for myositis compared with other neuromuscular disorders. *J Neurol.* (2005);252(5):534-537.

Herbert MK, Pruijn GJM. Novel serology testing for sporadic inclusion body myositis: disease-specificity and diagnostic utility. *Curr Opin Rheumatol.* (2015);27(6):595-600.

Herbert MK, Stammen-Vogelzangs J¹, Verbeek MM², Rietveld A³, Lundberg IE⁴, Chinoy H⁵, Lamb JA⁶, Cooper RG⁷, Roberts M⁸, Badrising UA⁹, De Bleecker JL¹⁰, Machado PM¹¹, Hanna MG¹¹, Plestilova L¹², Vencovsky J¹², van Engelen BG, Pruijn GJM. Disease specificity of autoantibodies to cytosolic 5'-nucleotidase 1A in sporadic inclusion body myositis versus known autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis.* (2015);0:1-6. doi:10.1136/annrheumdis-2014-206691.

Hilton-Jones D, Miller A, Parton M, Holton J, Sewry C, Hanna MG. Inclusion body myositis: MRC Centre for Neuromuscular Diseases, IBM workshop, London, 13 June 2008. *Neuromuscul Disord.* (2010);20(2):142-147.

Hiniker A, Daniels BH, Lee HS, Margeta M. Comparative utility of LC3, p62 and TDP-43 immunohistochemistry in differentiation of inclusion body myositis from polymyositis and related inflammatory myopathies. *Acta Neuropathol Commun.* (2013);1(1):29 (1-14).

Hokkoku K, Sonoo M, Higashihara M, Stålberg E, Shimizu T. Electromyographs of the flexor digitorum profundus muscle are useful for the diagnosis of inclusion body myositis. *Muscle Nerve.* (2012);46(2):181-186.

Holt JJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature.* (1988);331(6158):717-719.

Inukai Y, Nonaka T, Arai T, Yoshida M, Hashizume Y, Beach TG, Buratti E, Baralle FE, Akiyama H, Hisanaga S, Hasegawa M. Abnormal phosphorylation of Ser409/410 of TDP-43 in FTL-D and ALS. *FEBS Letters.* (2008);582:2899-2904.

Irazoque-Palazuelos F, Barragán-Navarro Y. Epidemiology, etiology and classification. *Reumatol Clin.* (2009);5S3:2-5.

Johnson LG, Collier KE, Edwards DJ, Philippe DL, Eastwood PR, Walters SE, Thickbroom GW, Mastaglia FL. Improvement in aerobic capacity after an exercise program in sporadic inclusion body myositis. *J Clin Neuromuscul Dis.* (2009);10(4):178-184.

Joshi PR, Vetterke M, Hauburger A, Tacik P, Stoltenburg G, Hanisch F. J Clin Neurosci. (2014);21(11):1959-1963.

Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, Yamamoto A, Kirisako T, Noda T, Kominami E, Ohsumi Y, Yoshimori T. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing. EMBO J. (2000);19(21):5720-5728.

Kase S, Shiota G, Fujii Y, Okamoto K, Oyama K, Nakano T, Nomura T, Suou T, Nakashima K, Ito H, Kawasaki H. Inclusion body myositis associated with hepatitis C virus infection. Liver. (2001);21(5):357-360.

Keppler OT, Hinderlich S, Langner J, Schwartz-Albiez R, Reutter W, Pawlita M. UDP-GlcNAc 2-epimerase: a regulator of cell surface sialylation. Science. (1999);284:1372-1376.

Khan S, Christopher-Stine L. Polymyositis, dermatomyositis, and autoimmune necrotizing myopathy: clinical features. Rheum Dis Clin North Am. (2011);37(2):143-158.

Koffman BM, Rugiero M, Dalakas MC. Immune-mediated conditions and antibodies associated with sporadic inclusion body myositis. Muscle Nerve. (1998);21(1):115-117.

Krause S. Insights into muscle degeneration from heritable inclusion body myopathies. Front Aging Neurosci. (2015);7:13. doi: 10.3389/fnagi.2015.00013.

Larue S, Maisonobe T, Benveniste O, Chapelon-Abric C, Lidove O, Papo T, Eymard B, Dubourg O. Distal muscle involvement in granulomatous myositis can mimic inclusion body myositis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. (2011);82(6):674-677.

Li K, Pu C, Huang X, Liu J, Mao Y, Lu X. Clinicopathologic features of sporadic inclusion body myositis in China. Neurol Neurochir Pol. (2015);49(4):245-250.

Limaye VS, Lester S, Blumbergs P, Greenberg SA. Anti-cn1a antibodies in south Australian patients with inclusion body myositis. Muscle Nerve. (2015); doi: 10.1002/mus.24989.

Lindgren U, Roos S, Hedberg Oldfors C, Moslemi AR, Lindberg C, Oldfors A. Mitochondrial pathology in inclusion body myositis. Neuromuscul Disord. (2015) Jan 6 (doi: 10.1016/j.nmd.2014.12.010) [Epub ahead of print].

Lippa CF, Fujiwara H, Mann DM, Giasson B, Babba M, Schmidt ML, Nee LE, O'Connell B, Pollen DA, St George-Hyslop P, Ghetti B, Nochlin D, Bird TD, Cairns NJ, Lee VM, Iwatsubo

T, Trojanowski JQ. Lewy bodies contain altered alpha-synuclein in brains of many familial Alzheimer's disease patients with mutations in presenilin and amyloid precursor protein genes. *Am J Pathol.* **(1998)**;153(5):1365-1370.

Lloyd TE, Mammen AL, Amato AA, Weiss MD, Needham M, Greenberg SA. Evaluation and construction of diagnostic criteria for inclusion body myositis. *Neurology.* **(2014)**;83(5):426-433.

Lloyd TE, Christopher-Stine L, Pinal-Fernandez I, Tiniakou E, Petri M, Baer A, Danoff SK, Pak K, Casciola-Rosen LA, Mammen AL. Cytosolic 5'-Nucleotidase 1A As a Target of Circulating Autoantibodies in Autoimmune Diseases. *Arthritis Care Res (Hoboken).* **(2016)**;68(1):66-71.

Lotz BP, Engel AG, Nishino H, Stevens JC, Litchy WJ. Inclusion body myositis. Observations in 40 patients. *Brain.* **(1989)**;112(Pt 3):727-747.

Machado P, Brady S, Hanna MG. Update in inclusion body myositis. **(2013)**. *Curr Opin Rheumatol*;25:763 –771.

Mahoney FI, Barthel DW. Functional Evaluation: The Barthel Index. *Md State Med J.* **(1965)**;14:61-65.

Mann HF, Vencovsky J, Lundberg IE. Treatment-resistant inflammatory myopathy. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* **(2010)**;24(3):427-440.

Masliah E, Rockenstein E, Veinbergs I, Mallory M, Hashimoto M, Takeda A, Sagara Y, Sisk A, Mucke L. Dopaminergic loss and inclusion body formation in α -synuclein mice: Implications for neurodegenerative disorders. *Science.* **(2000)**;287(5456):1265-1269.

Mastaglia FL, Phillips BA. Idiopathic inflammatory myopathies: epidemiology, classification, and diagnostic criteria. *Rheum Dis Clin N Am.* **(2002)**;28(4):723-741.

Mendell JR, Sahenk Z, Gales T, Paul L. Amyloid filaments in inclusion body myositis. Novel findings provide insight into nature of filaments. *Arch Neurol.* **(1991)**;48(12):1229-34.

Mishra P, Carelli V, Manfredi G, Chan DC. Proteolytic cleavage of Opa1 stimulates mitochondrial inner membrane fusion and couples fusion to oxidative phosphorylation. *Cell Metab.* **(2014)**;19(4):630-641.

Mizushima N, Yamamoto A, Matsui M, Yoshimori T, Ohsumi Y. In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. *Mol Biol Cell.* **(2004)**;15:1101–1111.

Mont’Alverne ARS, Marie SKN, Levy-Neto M, Souza FHC, Carvalho MS, Shinjo SK. Miosite de corpos de inclusão: série de 30 casos de um centro terciário brasileiro. *Acta Reumatol Port.* **(2013)**;38:179-185.

Morrow JM, Sinclair CD, Fischmann A, Machado PM, Reilly MM, Yousry TA, Thornton JS, Hanna MG. MRI biomarker assessment of neuromuscular disease progression: a prospective observational cohort study. *Lancet Neurol.* **(2016)**;15(1):65-77.

Muth IE, Zschüntzsch J, Kleinschnitz K, Wrede A, Gerhardt E, Balcarek P, Schreiber-Katz O, Zierz S, Dalakas MC, Voll RE, Schmidt J. HMGB1 and RAGE in skeletal muscle inflammation: Implications for protein accumulation in inclusion body myositis. *Exp Neurol.* **(2015)**;271:189-197.

Needham M, Mastaglia FL. Inclusion body myositis: current pathogenetic concepts and diagnostic and therapeutic approaches. *Lancet Neurol.* **(2007)**;6(7):620-631.

Needham M, Corbett A, Day T, Christiansen F, Fabian V, Mastaglia FL. Prevalence of sporadic inclusion body myositis and factors contributing to delayed diagnosis. *J Clin Neurosci.* **(2008-a)**;15:1350–1353.

Needham M, Mastaglia FL. Sporadic inclusion-body myositis: a continuing puzzle. *Neuromuscul Disord.* **(2008-b)**;18(1):6-16.

Needham M, James I, Corbett A, Day T, Christiansen F, Ohillips B, Mastaglia FL. Sporadic inclusion body myositis: Phenotypic variability and influence of HLA-DR3 in a cohort of 57 Australian cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* **(2008-c)**;79:1056-1060.

Neves M Jr, Barreto G, Boobis L, Harris R, Roschel H, Tricoli V, Ugrinowitsch C, Negrão C, Gualano B. Incidence of adverse events associated with percutaneous muscular biopsy among healthy and diseased subjects. *Scand J Med Sci Sports.* **(2012)**;22(2):175-178.

Nishino I. Autophagic vacuolar myopathy. *Semin Pediatr Neurol.* **(2006)**; 13(2):90-95.

No D, Valles-Ayoub Y, Carbajo R, Khokher Z, Sandoval L, Stein B, Tarnopolsky MA, Mozaffar T, Darvish B, Pietruszka M, Darvish D. Novel GNE Mutations in Autosomal

Recessive Hereditary Inclusion Body Myopathy Patients. *Genet Test Mol Biomarkers*. (2013);17(5):376-382.

Nodera H, Takamatsu N, Matsui N, Mori A, Terasawa Y, Shimatani Y, Osaki Y, Maruyama K, Izumi Y, Kaji R. Intramuscular dissociation of echogenicity in the triceps surae characterizes sporadic inclusion body myositis. (2015); doi: 10.1111/ene.12899.

Nogalska A, Engel WK, Askanas V. Increased BACE1 mRNA and noncoding BACE1-antisense transcript in sporadic inclusion-body myositis muscle fibers--possibly caused by endoplasmic reticulum stress. *Neurosci Lett*. (2010);474(3):140-143.

Nogalska A, D'Agostino C, Engel WK, Askanas V. Novel demonstration of conformationally modified tau in sporadic inclusion-body myositis muscle fibers. *Neurosci Lett*. (2011);503(3):229-233.

Oddis CV, Conte CG, Steen VD, Medsger TA Jr. Incidence of polymyositis-dermatomyositis: a 20-year study of hospital diagnosed cases in Allegheny County, PA 1963-1982. *J Rheumatol*. (1990);17:1329-1334.

Oldfors A, Larsson NG, Lindberg C, Holme E. Mitochondrial DNA deletions in inclusion body myositis. *Brain*. (1993);116(Pt 2):325-336.9

Ortigosa LCM, Reis VMS. Dermatomiosite. *An Bras Dermatol*. (2008);83(3):247-259.

Page LJ, Suk JY, Bazhenova L, Fleming SM, Wood M, Jiang Y, Guo LT, Mizisin AP, Kisilevsky R, Shelton GD, Balch WE, Kelly JW. Secretion of amyloidogenic gelsolin progressively compromises protein homeostasis leading to the intracellular aggregation of proteins *Proc Natl Acad Sci USA*. (2009);106(27):11125-11130.

Panaite PA, Stalder AK, Ipsen S, Kuntzer T, Steck AJ. mTOR is expressed in polymyositis but not in sporadic inclusion body myositis. *Clin Neuropathol*. (2015);34(6):371-373.

Pankiv S, Clausen TH, Lamark T, Brech A, Bruun JA, Outzen H, Øvervatn A, Bjørkøy G, Johansen T. p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy. *J Biol Chem*. (2007);282(33):24131-24145.

Peyer AK, Kinter J, Hench J, Frank S, Fuhr P, Thomann S, Fischmann A, Kneifel S, Camaño P, López de Munain A, Sinnreich M, Renaud S. Novel valosin containing protein mutation in

a Swiss family with hereditary inclusion body myopathy and dementia. *Neuromuscul Disord.* (2013);23(2):149-154.

Phillips BA, Zilko PJ, Mastaglia FL. Prevalence of sporadic inclusion body myositis in Western Australia. *Muscle Nerve.* (2000);23 (6):970–972.

Pluk H, van Hoeve BJA, van Dooren SHJ, Stammen-Vogelzangs J, van der Heijden A, Schelhaas HJ, Verbeek MM, Badrising UA, Arnardottir S, Gheorghe K, Lundberg IE, Boelens WC, van Engelen BG, Pruijn GJM. Autoantibodies to Cytosolic 5'-Nucleotidase 1^A in Inclusion Body Myositis. *Ann Neurol.* (2013);73(3):397-407.

Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL. Mutation in the α -Synuclein Gene Identified in Families with Parkinson's Disease. *Science.* (1997);276(5321):2045-2047.

Ralston SH, Langston AL, Reid IR. *Lancet.* (2008);372:155-163.

Rose MR, and ENMC IBM Working Group. 188th ENMC International Workshop: Inclusion Body Myositis, 2-4 December 2011, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord.* (2013);23:1044-1055.

Rygiel KA, Miller J, Grady JP, Rocha MC, Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial and inflammatory changes in sporadic inclusion body myositis. *Neuropathol Appl Neurobiol.* (2015);41(3):288-303.

Rutkove SB, Parker RA, Nardin RA, Connolly CE, Felice KJ, Raynor EM. A pilot randomized trial of oxandrolone in inclusion body myositis. *Neurology.* (2002);58(7):1081-1087.

Saltychev M, Mikkelsen M, Laimi K. Medication of inclusion body myositis: a systematic review. *Acta Neurol Scand.* (2015); doi: 10.1111/ane.12455.

Sandri M. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology (Bethesda).* (2008);23:160-170.

Sanmaneechai O, Swenson A, Gerke AK, Moore SA, Shy ME. Inclusion body myositis and sarcoid myopathy: Coincidental occurrence or associated diseases. *Neuromuscul Disord.*

(2015);25(4):297-300.

Santa-Maria I, Santpere G, MacDonald MJ, Gomez de Barreda E, Hernandez F, Moreno FJ, Ferrer I, Avila J. Coenzyme Q induces Tau Aggregation, Tau Filaments and Hirano Bodies. *J Neuropathol Exp Neurol.* (2008);67(5):428-434.

Schiffenbauer A. Imaging: seeing muscle in new ways. *Curr Opin Rheumatol.* (2014);26(6):712-716.

Schmidt J, Dalakas MC. Inclusion body myositis: from immunopathology and degenerative mechanisms to treatment perspectives. *Expert Rev Clin Immunol.* (2013);9(11):1125-1133.

Scola RH, Werneck LC, Franco CR. Cytoplasmic inclusion bodies: a study in several diseases and a review of the literature. *Arq Neuropsiquiatr.* (1996);54(2):245-259.

Selcen D, Ohno K, Engel AG. Myofibrillar myopathy: clinical, morphological and genetic studies in 63 patients. *Brain.* (2004);127(Pt 2):439–451.

Semino-Mora C, Dalakas MC. Rimmed vacuoles with β -amyloid and ubiquitinated filamentous deposits in the muscles of patients with long-standing denervation (post-poliomyelitis muscular atrophy): similarities with inclusion body myositis. *Human Pathol.* (1988);29(10):1128–1133.

Shvets E, Fass E, Scherz-Shouval R, Elazar Z. The N-terminus and Phe52 residue of LC3 recruit p62/SQSTM1 into autophagosomes. (2008);121(Pt 16):2685–2695.

Solorzano GE, Phillips LH. Inclusion body myositis: diagnosis, pathogenesis, and treatment options. *Rheum Dis Clin North Am.* (2011);37(2):173-183.

Song C, Wang Q, Song C, Lockett SJ, Colburn NH, Li CC, Wang JM, Rogers TJ. Nucleocytoplasmic shuttling of valosin-containing protein (VCP/p97) regulated by its N domain and C-terminal region. *Biochim Biophys Acta.* (2015);1853(1):222-232.

Sparks SE, Ciccone C, Lalor M, Orvisky E, Klootwijk R, Savelkoul PJ, Dalakas MC, Krasnewich DM, Gahl WA, Huizing M. Use of a cell-free system to determine UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase and N-acetylmannosamine kinase activities in human hereditary inclusion body myopathy. *Glycobiology.* (2005);15(11):1102–1110.

Sugie K, Kumazawa A, Ueno S. Sporadic Inclusion Body Myositis Presenting with Beever's Sign. *Intern Med.* (2015);54:2793-2794.

Surampalli A, Gold BT, Smith C, Castellani RJ, Khare M, Yu H, Nguyen C, Lan M, Wencel M, Wigal S, Caiozzo V, Kimonis V. A case report comparing clinical, imaging and neuropsychological assessment findings in twins discordant for the VCP p.R155C mutation. *Neuromuscul Disord.* **(2015)**;25(2):177-183.

Tasca G, Monforte M, De Fino C, Kley RA, Ricci E, Mirabella M. Magnetic resonance imaging pattern recognition in sporadic inclusion-body myositis. *Muscle Nerve.* (2015);52(6):956-962.

Tawil R, Griggs RC. Inclusion body myositis. *Curr Opin Rheumatol.* **(2002)**;14(6):653-657.

Terracciano C, Nogalska A, Engel WK, Askanas V. In AbetaPP-overexpressing cultured human muscle fibers proteasome inhibition enhances phosphorylation of AbetaPP751 and GSK3beta activation: effects mitigated by lithium and apparently relevant to sporadic inclusion-body myositis. *J Neurochem.* **(2010)**;112(2):389-396.

Tournadre A, Dubost JJ, Soubrier M. Treatment of inflammatory muscle disease in adults. *Joint Bone Spine.* **(2010)**;77(5):390-394.

Tsuruta Y, Yamada T, Yoshimura T, Satake M, Ogata K, Yamamoto T, Furuya H, Kira J. Inclusion body myositis associated with hepatitis C virus infection. *Fukuoka Igaku Zasshi.* **(2001)**;92(11):370-376.

Uruha A, Noguchi S, Hayashi YK, Tsuburaya RS, Yonekawa T, Nonaka I, Nishino I. Hepatitis C virus infection in inclusion body myositis: A case-control study. *Neurology.* **(2016)**;86(3):211-217.

van Swieten JC, Koudstaal PJ, Visser MC, Schouten HJ, van Gijn J. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. *Stroke.* **(1988)**;19(5):604-607.

Vattemi G, Tonin P, Marini M, Guadagnin ML, Dal Pra B, Simonati A, Filosto M, Tomelleri G. Sarcoidosis and inclusion body myositis. *Rheumatology (Oxford).* **(2008)**;47(9):1433-1435.

Verschuuren JJ, van Engelen BGM, van der Hoeven J, Hoogendijk J. In: 2a edição. Diagnostic criteria for neuromuscular disorders. London, Royal Society of Medicine Press. **(1997)**.

Wang H, Wu S. Novel valosin containing protein mutation in a Swiss family with hereditary inclusion body myopathy and dementia. *Neuromuscul Disord.* **(2015)**;25(3):273.

Weihl CC, Miller SE, Zaidman CM, Pestronk A, Baloh RH, Al-Lozi M. Novel GNE mutations in two phenotypically distinct HIBM2 patients. *Neuromuscular Disorders.* **(2011)**;21:102–105.

Wilczynski GM, Engel WK, Askanas V. Association of active extracellular signal-regulated protein kinase with paired helical filaments of inclusion-body myositis muscle suggests its role in inclusion-body myositis tau phosphorylation. *Am J Pathol.* **(2000)**;156(6):1835-40.

Wu J, Dang Y, Su W, Liu C, Ma H, Shan Y, Pei Y, Wan B, Guo J, Yu L. Molecular cloning and characterization of rat *LC3A* and *LC3B* – Two novel markers of autophagosome. *Biochem Biophys Res Commun.* **(2006)**;339(1):437-42.

Yang CC, Alvarez RB, Engel WK, Haun CK, Askanas V. Immunolocalization of nitric oxide synthases at the postsynaptic domain of human and rat neuromuscular junctions--light and electron microscopic studies. *Exp Neurol.* **(1997)**;148(1):34-44.

Yunis EJ, Samaha FJ. Inclusion body myositis. *Lab Invest.* **(1970)**;25(3):240-248.

10 Quadros

Quadro 1: Critérios diagnósticos de Griggs para IBM - 1995.

Critério	Características
A. Clínico	<ol style="list-style-type: none"> 1. Duração da doença > 6 meses; 2. Idade de início > 30 anos de idade; 3. Fraqueza muscular: predominando nas porções proximais e distais dos membros, OU pelo menos uma das seguintes alterações: <ol style="list-style-type: none"> a) Fraqueza na musculatura flexora dos dedos das mãos; b) Fraqueza da musculatura extensora do punho < que a flexora do punho; c) Fraqueza do MQF ($MRC \leq 4$).
B. Laboratorial	<ol style="list-style-type: none"> 1. Valores séricos de CK < 12 vezes o LSN; 2. Biópsia muscular: <ol style="list-style-type: none"> a) Inflamação, com células inflamatórias mononucleares invadindo fibras sem necrose; b) Fibras vacuolizadas; c) OU: <ol style="list-style-type: none"> (i) Depósito de amiloide intracelular, OU (ii) Inclusões túbulo-filamentosas à microscopia eletrônica. 3. ENMG: Características de miopatia inflamatória (podem ocorrer potenciais de longa duração).
C. História familiar	
Diagnóstico definitivo	[Preenche todos os critérios histológicos (critérios B2).]
Diagnóstico possível	[Inflamação (B2a) + alterações clínicas (A 1,2,3) + alterações laboratoriais (B 1,3).]

Fonte: Adaptado de Griggs, 1995.

MQF= músculo quadriceps femoral. **MRC**= Medical Research Council. **CK**= Creatinofosquinase. **LSN**= Limite superior da normalidade. **ENMG**= Eletro-neuromiografia.

Quadro 2: Critérios diagnósticos do *European Neuromuscular Centre (ENMC)* para IBM - 1997.

Critério	Características
A. Clínico	1. Presença de fraqueza muscular; 2. Fraqueza dos músculos do antebraço, particularmente os flexores dos dedos, ou flexores do punho > extensores do punho; 3. Evolução lentamente progressiva; 4. Doença esporádica.
B. Histopatológico	5. Infiltrado inflamatório mononuclear com invasão de fibras normais; 6. Fibras vacuolizadas (vacúolo marginado); 7. Ultraestrutural: Inclusões túbulo-filamentosas (16 a 21 nm) na microscopia eletrônica.
Diagnóstico definitivo (Preenche os critérios 1, 2, 3, 4, 5, 6 OU 1, 3, 4, 5, 6,7)	
Diagnóstico provável (Preenche os critérios 1, 2, 3, 4, 5 OU 1, 3, 4, 5, 6)	

Fontes: Adaptado de Verschuuren, 1997 & Badrising, 2000.

Quadro 3: Critérios diagnósticos do Centro de Doenças Neuromusculares do *MRC* para IBM - 2008/2009.

IBM patologicamente definitiva	Obedecendo os critérios de Griggs (1995)	Invasão de fibras não-necróticas por células mononucleares, E vacúolos marginados, E depósitos amilóides intracelulares OU inclusões túbulo-filamentosas (15-18nm) à ME.
IBM clinicamente definitiva	Aspectos clínicos	1. Duração da fraqueza > 12 meses; 2. Idade > 35 anos de idade; 3. Fraqueza flexão dedos das mãos > abdução do ombro E da extensão da perna > flexão da coxa.
	Aspectos patológicos	Invasão de fibras não-necróticas por células mononucleares OU vacúolos marginados OU aumento expressão de MHC-I, MAS SEM depósitos amilóides intracelulares ou inclusões túbulo-filamentosas (15-18nm) à ME.
IBM possível	Critérios clínicos	1. Duração da fraqueza > 12 meses; 2. Idade > 35 anos de idade; 3. Fraqueza flexão dedos das mãos > abdução do ombro OU da extensão da perna > flexão da coxa.
	Critérios patológicos	Invasão de fibras não-necróticas por células mononucleares OU vacúolos marginados OU aumento expressão de MHC-I, MAS SEM depósitos amilóides intracelulares ou inclusões túbulo-filamentosas (15-18nm) à ME.

Fontes: Adaptado de Benveniste, 2010 & Hilton-Jones, 2010.

MRC= Medical Research Council. MHC-I= major histocompatibility complex class I. ME= Microscopia eletrônica.

Quadro 4: Critérios diagnósticos do European Neuromuscular Centre (ENMC) para IBM - 2011.

IBM clínico-patologicamente definitiva	<p>Aspectos clínicos</p> <p>Aspectos patológicos (presença de todos)</p>	<p>1. Duração da fraqueza > 12 meses; 2. Idade de início dos sintomas > 45 anos; 3. Fraqueza flexão dedos das mãos > abdução do ombro E/OU da extensão da perna > flexão da coxa. 4. Valor sérico CK ≤ 15 vezes o LSN; 1. Infiltrado inflamatório endomisial; 2. Presença de vacúolos marginados;; 3. Presença de depósito de proteínas* OU inclusões túbulo-filamentosas (15-18nm) à ME.</p>
IBM clinicamente definitiva	<p>Aspectos clínicos</p> <p>Aspectos patológicos (presença de pelo menos 1, mas não todos)</p>	<p>1. Duração da fraqueza > 12 meses; 2. Idade de início dos sintomas > 45 anos; 3. Fraqueza flexão dedos das mãos > abdução do ombro E da extensão da perna > flexão da coxa. 4. Valor sérico CK ≤ 15 vezes o LSN; 1. Infiltrado inflamatório endomisial; 2. Presença de vacúolos marginados;; 3. Aumento da expressão de MHC-I 4. Presença de depósito de proteínas* OU inclusões túbulo-filamentosas (15-18nm) à ME.</p>
IBM provável	<p>Critérios clínicos</p> <p>Aspectos patológicos (presença de pelo menos 1, mas não todos)</p>	<p>1. Duração da fraqueza > 12 meses; 2. Idade de início dos sintomas > 45 anos; 3. Fraqueza flexão dedos das mãos > abdução do ombro OU da extensão da perna > flexão da coxa. 4. Valor sérico CK ≤ 15 vezes o LSN; 1. Infiltrado inflamatório endomisial; 2. Presença de vacúolos marginados;; 3. Aumento da expressão de MHC-I 4. Presença de depósito de proteínas* OU inclusões túbulo-filamentosas (15-18nm) à ME.</p>

Fontes: Adaptado de Rose, 2013 & Brady, 2013.

*Demonstração de depósitos amilóides ou outras proteínas por métodos estabelecidos (ex. Vermelho-congo para amilóide, cristal violeta, tioflavina T/S, para outras proteínas p62, SMI-31, TDP-43).

CK= Creatinofosfoquinase. **LSN**= Limite superior da normalidade. **MHC-I**= *major histocompatibility complex class I*.

ME= Microscopia eletrônica.

Quadro 5: Escala de Rankin modificada (RmS)

Pontuação	Classificação	Descrição
0	Assintomático	Assintomático
1	Sintomas sem incapacidade	Capaz de realizar tarefas e atividades habituais prévias
2	Incapacidade leve	Incapaz de realizar todas as atividade habituais prévias, mas capaz de realizar suas necessidades pessoais sem ajuda
3	Incapacidade moderada	Requer alguma ajuda para as suas atividades, mas é capaz de andar sem ajuda de outra pessoa.
4	Incapacidade moderada a acentuada	Incapacidade de andar sem ajuda, incapacidade de realizar suas necessidades pessoais sem ajuda
5	Incapacidade acentuada	Acamado, incontinência, requer cuidados de enfermagem e observação constante
6	Óbito	Óbito

Fonte: Adaptado de van Swieten, 1988

Quadro 6: Índice de Barthel (atividades de vida diária).

Parâmetro	Pontuação		
	Dependente	Com ajuda	Independente
1- Alimentação	0	5	10
2- Transferência da cadeira de rodas/cama	0	5/10	15
3- Higiene pessoal	0	0	5
4- Uso do vaso sanitário	0	5	10
5- Banho	0	0	5
6- Andar	0	5/10	15
7- Subir escadas	0	5	10
8- Vestir-se	0	5	10
9- Controle fecal	0	5	10
10- Controle urinário	0	5	10

Fonte: Adaptado de Mahoney, 1965.

> Pontuação máxima 100 (cadeira de rodas = 90). Grau de dependência/Pontuação:

1) total < 20, **2) acentuada** = 20-35, **3) moderada** = 40-55, **4) leve** ≥ 60, e
5) independente = 100.

11 ANEXOS

ANEXO 1 – Documento comprobatório da aprovação pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do HC-FMUSP em **19/10/2011** (No Protocolo: **0740/11**).

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0740/11

Título: Estudo clínico, histológico, imunoistoquímico e da função lisosomal na miosite por corpos de inclusão

Pesquisador Responsável: Edmar Zanoteli

Pesquisador Executante: Leonardo Valente de Camargo

Disciplina: Neurologia Experimental

Departamento: NEUROLOGIA

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** na sessão datada de 15/10/2014, do(s) documento(s) abaixo mencionado(s):

• Carta datada de 14.03.14 - Inclusão do Setor de Investigação em Doenças Neuromusculares da UNIFESP/EPM como centro coparticipante do estudo + Relatório parcial da pesquisa

CAPPesq, 15 de Outubro de 2014

Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

ANEXO 2 – Documento comprobatório da solicitação de inclusão do Setor de Investigação em Doenças Neuromusculares da UNIFESP/EPM como centro co-participante em 14/03/2014.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FMUSP
Divisão de Clínica Neurológica / ICHC
2661-6401 / 2661-7877

São Paulo, 14 de março de 2014

Prof.Dr. Luiz Eugênio Garcez Lima
DD. Coordenador
Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa – CAPPesq

Solicito a inclusão do Setor de Investigação em Doenças Neuromusculares da UNIFESP/EPM, no protocolo de pesquisa nº 0740/11, intitulado **“ESTUDO CLÍNICO, HISTOLÓGICO, IMUNOISTOQUÍMICO E DA FUNÇÃO LISOSSOMAL NA MIOSITE POR CORPOS DE INCLUSÃO”**, como Centro co-participante.

Até o momento foram avaliados 13 pacientes com diagnóstico histológico de miosite por corpos de inclusão. Estes pacientes foram avaliados clinicamente através de exame neurológico completo, realizado no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do HC-FMUSP. A partir da aprovação desta Comissão também serão avaliados os pacientes do centro co-participante.

Atenciosamente,

Prof.Dr. Edmar Zanoteli
Pesquisador Responsável

ANEXO 3 – Documento comprobatório da aprovação da inclusão do Setor de Investigação em Doenças Neuromusculares da UNIFESP/EPM como centro co-participante em 27/02/2014.

UNIFESP UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA	DEPARTAMENTO DE NEUROLOGIA E NEUROCIRURGIA
DISCIPLINA DE NEUROLOGIA CLÍNICA	SETOR DE NEUROMUSCULAR

São Paulo 27 de fevereiro de 2014

Eu, **Prof. Dr. Acary Souza Bulle Oliveira**, estou ciente do projeto de pesquisa do aluno **Leonardo Valente de Camargo**, sob orientação do **Prof. Dr. Edmar Zanoteli**, para doutoramento em Neurologia pela Universidade de São Paulo, com o tema **"Estudo clínico, histológico, imunoistoquímico e da função lisossomal na miosite por corpos de inclusão."** Projeto aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas da FMUSP em **19/10/2011** (No Protocolo: **0740/11**).

Autorizo a inclusão do **Setor de Investigação em Doenças Neuromusculares da UNIFESP/EPM**, localizado na Rua Estado de Israel, 899 - Vila Clementino - São Paulo/SP - (11) 5571-3324 como centro co-participante no projeto de pesquisa supracitado.

Atenciosamente,

Acary S. B. Oliveira
Neurologia Clínica
CRM 42703

Acary Souza Bulle Oliveira

Responsável pelo Setor de Doenças Neuromusculares