

GUSTAVO LUIZ BEHRENS PINTO

**Relevância da interleucina-17A sérica em síndrome antissintetase:
estudo transversal e prospectivo**

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

Programa de Ciências do Sistema
Músculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo

São Paulo

2021

GUSTAVO LUIZ BEHRENS PINTO

**Relevância da interleucina-17A sérica em síndrome antissintetase:
estudo transversal e prospectivo**

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

Programa de Ciências do Sistema
Músculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo

São Paulo

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Pinto, Gustavo Luiz Behrens
Relevância da interleucina-17A sérica em síndrome
antissintetase : estudo transversal e prospectivo /
Gustavo Luiz Behrens Pinto. -- São Paulo, 2021.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético.
Orientador: Samuel Katsuyuki Shinjo.

Descritores: 1.Citocinas 2.Interleucina-17
3.Miopatias inflamatórias 4.Miosite 5.Síndrome
antissintetase

USP/FM/DBD-066/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

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

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

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

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

Nome: Gustavo Luiz Behrens Pinto

Título: Relevância da interleucina-17A sérica em síndrome antissintetase: estudo transversal e prospectivo

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

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À minha família e a minha companheira
Luana Sarmento Neves da Rocha pelo
suporte e compreensão que tornam
esta jornada possível.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo, exemplo de compromisso e dedicação. Pesquisador incansável, tem toda a minha admiração e é referência para a minha trajetória acadêmica.

A todo o grupo das miopatias inflamatórias da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - SP. Um agradecimento especial a minha colega de residência e amiga Renata Casseb de Souza Carboni, pela ajuda inestimável na tabulação e na divulgação dos dados. E um agradecimento especial também ao Dr. Fernando Henrique Carlos de Souza, Dra. Marilda Guimarães Silva e Isabela Bruna Pires Borges, pela ajuda durante este processo.

A todos aqueles que se voluntariaram para a pesquisa, sem os quais esse projeto não teria sido possível.

Ao Serviço de Reumatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - SP, e a todos que a compõem, por toda a estrutura que me permitiu enorme crescimento pessoal e profissional nos últimos anos.

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

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1. Introdução.....	15
1.1 Síndrome antissintetase	15
1.2 Histórico	15
1.3 Epidemiologia	16
1.4 Fisiopatologia	16
1.5 Manifestações clínicas	17
1.6 Diagnóstico e classificação	18
1.7 Anticorpos antissintetases.....	19
1.8 Biomarcadores em síndrome antissintetase.....	20
2. Justificativa.....	22
3. Objetivo.....	23
4. Materiais e Métodos.....	24
4.1 Desenho de estudo	24
4.2 Critérios de inclusão	24
4.3 Critérios de exclusão	24
4.4 Método	26
4.5 Grupo controle.....	27
4.6 Análise estatística.....	28
5. Resultados.....	29
5.1 Características gerais dos pacientes.....	29
5.2 Primeira fase: corte transversal	29
5.3 Segunda fase: Análise prospectiva	34
6. Discussão.....	37
7. Conclusões.....	41
8. Referências.....	42
9. Anexos.....	50

9.1	Questionários de atividade de doença	50
9.2	Artigo publicado.....	53

Lista de abreviaturas e siglas

ALT	Alanina aminotransferase
Anti-ARS	Anticorpo anti-aminoacil-RNA transportador sintetase
AST	Aspartato aminotransferase
BAFF	<i>B-cell activating factor</i>
CPK	Creatinofosfoquinase
CVF	Capacidade vital forçada
DHL	Desidrogenase láctica
DLCO	<i>Diffusion lung capacity for carbon monoxide</i>
ELISA	<i>Enzyme linked immunosorbent assay</i>
EVA	Escala visual analógica
HAQ	<i>Health Assessment Questionnaire</i>
IFN	Interferon
IL	Interleucina
IMACS	<i>International Myositis Assessment and Clinical Studies Group</i>
MMT	<i>Manual Muscle Testing</i>
MYOACT	<i>Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scales</i>
PCR	Proteína C-reativa
VEF1	Volume expiratório forçado no primeiro segundo
SAS	Síndrome antissintetase
TGF	<i>Transforming growth factor</i>
TNF	<i>Tumoral necrosis factor</i>
VEF1	Volume expiratório forçado no primeiro segundo
VHS	Velocidade de hemossedimentação

Lista de Figuras

Figura 1 - Fluxograma de seleção de pacientes para o estudo	25
---	----

Lista de Tabelas

- Tabela 1** - Dados demográficos, características clínicas, parâmetros laboratoriais e tomografia computadorizada do tórax dos pacientes com síndrome antissintetase no momento do diagnóstico 30
- Tabela 2** - Dados demográficos, tomografia computadorizada de tórax e testes de função pulmonar dos pacientes com síndrome antissintetase no momento da inclusão no estudo..... 31
- Tabela 3** - Estado de doença e concentração sérica de interleucina-17A em pacientes com síndrome antissintetase e controles saudáveis 33
- Tabela 4** - Avaliação no início do tratamento, 6 e 12 meses após uso de rituximabe nos 16 pacientes com síndrome antissintetase refratária..... 36

RESUMO

Pinto GLB. *Relevância da interleucina-17A sérica em síndrome antissintetase: estudo transversal e prospectivo* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Introdução: Síndrome antissintetase (SAS) é uma miopatia autoimune sistêmica com envolvimento muscular, pulmonar e articular, em associação a febre, “mãos de mecânico” e fenômeno de Raynaud. A citocina pró-inflamatória interleucina (IL)-17A sérica foi correlacionada a atividade de doença em diversas doenças autoimunes, incluindo outras miopatias autoimunes sistêmicas. Porém, o papel de IL-17A em síndrome antissintetase ainda não foi estabelecido. **Objetivo:** Avaliar a concentração sérica de IL-17A em pacientes com SAS em comparação com indivíduos saudáveis e correlacioná-la a dados demográficos, clínicos e laboratoriais. Secundariamente, analisar prospectivamente a concentração sérica de IL-17A em pacientes com SAS refratária submetidos a tratamento com rituximabe. **Materiais e métodos:** Trata-se de um estudo realizado no período de 2017 a 2019, constituído de duas fases: a) a IL-17A foi avaliada transversalmente em 64 pacientes com SAS, os quais foram pareados por idade, gênero e etnia com 64 controles saudáveis. Nesta fase foi analisada também a correlação da concentração sérica de IL-17A com dados demográficos, clínicos e laboratoriais; b) a IL-17A foi avaliada prospectivamente em pacientes com SAS refratária e que receberam rituximabe por um período de 12 meses. O *status* da doença foi mensurado pelo escore *International Myositis Assessment & Clinical Studies Group*. A IL-17A foi avaliada pelo método de *enzyme linked immunosorbent assay*. **Resultados:** A média de idade dos pacientes foi de 44,8±11,8 anos, com uma predominância do sexo feminino e etnia branca. A IL-17A estava aumentada em pacientes com SAS, quando comparada a do grupo controle: 9,7 (9,1-10,4) vs. 7,7 (5,7-9,0) pg/mL, respectivamente ($P<0,001$). Entretanto, as variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais, incluindo os parâmetros de atividade de doença, não apresentaram correlação com a concentração sérica de IL-17A em pacientes com SAS. Prospectivamente, 16 pacientes receberam rituximabe e apresentaram uma queda de IL-17A ao longo de 12 meses de tratamento: 9,7 (9,1-10,6) vs. 9,0 (8,2-9,7) pg/mL ($P=0,005$). **Conclusões:** Pacientes com SAS apresentam aumento na concentração sérica de IL-17A, quando comparados com a de controles saudáveis. Além disto, os pacientes com SAS refratária tratados com rituximabe apresentam uma redução da concentração sérica de IL-17A no primeiro ano de tratamento.

Descritores: Citocinas; Interleucina-17; Miopatias inflamatórias; Miosite; Síndrome antissintetase.

ABSTRACT

Pinto GLB. *Relevance of serum interleukin-17A in antisynthetase syndrome: a cross-sectional and prospective study* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2021.

Background: Antisynthetase syndrome (ASS) is a systemic autoimmune myopathy with muscular, pulmonary and joint involvement, in association with fever, mechanic's hands and Raynaud phenomenon. The serum proinflammatory cytokine interleukin (IL)-17A has been correlated with disease activity in several autoimmune diseases, including other systemic autoimmune myopathies. However, the role of IL-17A in ASS has not yet been established. **Objectives:** To assess the serum level of the IL-17A in patients with ASS compared to healthy individuals and to correlate it with demographic, clinical and laboratory data. Secondly, to analyze prospectively this IL in patients with refractory ASS undergoing treatment with rituximab. **Methods:** This is a study carried out from 2017 to 2019, consisting of two phases: a) IL-17A was assessed transversally in 64 patients with ASS, who were matched for age, gender and ethnicity with 64 healthy controls. In this phase, the correlation of the serum concentration of IL-17A with demographic, clinical and laboratory data were also analyzed; b) IL-17A was prospectively assessed in patients with refractory ASS who received rituximab for a period of 12 months. The disease status was measured using the International Myositis Assessment & Clinical Studies Group scores. IL-17A was evaluated using the enzyme linked immunosorbent assay method. **Results:** The mean age of the patients was 44.8 ± 11.8 years, with a predominance of females and white ethnicity. IL-17A was increased in patients with ASS, when compared to the control group: 9.7 (9.1-10.4) vs. 7.7 (5.7-9.0) pg/mL, respectively ($P < 0.001$). However, demographic, clinical and laboratory variables, including disease activity parameters, did not correlate with the serum concentration of IL-17A in patients with ASS. Prospectively, 16 patients received rituximab and experienced a drop in IL-17A over 12 months of treatment: 9.7 (9.1-10.6) vs. 9.0 (8.2-9.7) pg/mL ($P = 0.005$). **Conclusions:** Patients with ASS show an increase in the serum concentration of IL-17A, when compared to that of healthy controls. In addition, patients with refractory ASS treated with rituximab experience a reduction in serum IL-17A concentration in the first year of treatment.

Descriptors: Cytokines; Interleukin-17; Inflammatory myopathies; Myositis; Antisynthetase syndrome.

1. Introdução

1.1 Síndrome antissintetase

Síndrome antissintetase (SAS) é uma miopatia autoimune sistêmica caracterizada clinicamente por envolvimento muscular, pulmonar e articular, febre persistente, fenômeno de Raynaud e “mãos de mecânico” (1-3). Laboratorialmente, SAS é definida pela presença de autoanticorpos anti-aminoacil-RNA transportador sintetases (anti-ARS) (4). Faz parte do grupo das miopatias autoimunes sistêmicas, juntamente com a dermatomiosite, polimiosite, miosite por corpos de inclusão, miopatia necrosante imunomediada, entre outras (5-7). O fenótipo característico dos pacientes com SAS sugere que essa doença seja uma entidade específica dentro do espectro das miopatias autoimunes sistêmicas (8,9).

1.2 Histórico

A história da caracterização da SAS se inicia em 1976 com a descrição do anticorpo anti-Jo-1, um anti-ARS, em um paciente de nome John P., portador de polimiosite e doença intersticial pulmonar (10). Em 1990, Marguerie *et al.* (11) descrevem 29 pacientes com anti-ARS, doença articular e elevada frequência de miosite e doença pulmonar intersticial (80%). Os dados corroboravam com as séries de caso publicadas até aquele momento, que demonstravam que pacientes portadores desses autoanticorpos apresentavam uma síndrome clínica semelhante, com elevada prevalência de miosite e doença intersticial pulmonar, tanto para pacientes com anti-Jo-1 (12,13) como para outros anti-ARS recém identificados (12,14). Neste mesmo período, Mathews *et al.* (15) identificam a histidil-tRNA sintetase como antígeno alvo do anticorpo anti-Jo-1.

Nos estudos iniciais, SAS era considerada como uma síndrome clínica associada à presença de dermatomiosite ou polimiosite (11,12,14,16). Com o passar do tempo, o conceito evoluiu, e hoje SAS é concebida como uma entidade nosológica distinta, com características clínicas, laboratoriais e histopatológicas específicas (9,17). Em 2015, Mescam-Mancini *et al.* (8) descreveram em biópsias de 51 pacientes portadores de anti-Jo-1 achados histopatológicos característicos, como necrose perifascicular, atrofia

perifascicular e fragmentação perimisial, em comparação com 63 biópsias de pacientes portadores de outras miopatias inflamatórias. Em 2017, outro trabalho demonstrou que os achados são consistentes para pacientes com outros anti-ARS (18) e sugere que esses achados são característicos de SAS.

1.3 Epidemiologia

Estudos epidemiológicos são escassos em SAS, logo sua prevalência na população geral é desconhecida. Os poucos estudos epidemiológicos de SAS demonstram uma prevalência maior em caucasianos, mulheres e média de idade entre 39 e 47 anos ao diagnóstico (9-11). A maior coorte publicada até o momento em SAS, com 813 pacientes, encontrou uma idade média de 51 anos no início do diagnóstico (22). Foi descrita uma incidência anual aproximada de 1,3 a 2,5 casos de miosite anti-Jo-1 por milhão de pessoas, com prevalência de 1,5 por cem mil habitantes (17).

1.4 Fisiopatologia

Existem algumas hipóteses para explicar a fisiopatogênese em SAS. A hipótese viral se baseia no fato de que alguns vírus da família picornavírus são capazes de utilizar enzimas que acetilam sintetases para sua replicação. O complexo RNA viral - sintetase seria capaz de gerar uma resposta imunológica e autoanticorpos que estariam ligados a gênese da doença (23). Existe uma outra hipótese onde injúrias musculares (incluindo infecções) poderiam causar a liberação de sintetases das células lesionadas. Essas moléculas, em indivíduos geneticamente suscetíveis, seriam capazes de induzir uma resposta imunológica e consequente desenvolvimento da doença (24). A hipótese imunológica está ligada a descrição de proliferação de subpopulações específicas de linfócitos e células dendríticas na presença de anti-ARS (25), além de um possível papel de imunocomplexos na geração da inflamação pulmonar (26). Do ponto de vista genético, o haplótipo HLA DRB1*03:01 foi associado a maior risco de desenvolver SAS (9).

1.5 Manifestações clínicas

As principais manifestações clínicas da doença são miosite, doença intersticial pulmonar e artrite, que são conhecidas como a tríade clássica. São consideradas manifestações secundárias a febre persistente e inexplicada, “mãos de mecânico” e fenômeno de Raynaud (1,2). Raramente a tríade clássica está presente de forma completa no início da manifestação dos sintomas em SAS. Um estudo demonstrou que apenas 19% dos pacientes apresentavam as três principais manifestações clínicas da doença no momento do início dos sintomas (27). Diversos estudos demonstram consistentemente que as manifestações tendem a surgir ao longo de meses a anos de acompanhamento desses pacientes (28–31).

A miosite se apresenta clinicamente por mialgia e fraqueza muscular e nos exames complementares é possível identificar aumento das concentrações séricas de creatinofosfoquinase (CPK) e aldolase, eletroneuromiografia com padrão miopático (aumento da atividade espontânea, baixa amplitude, curta duração dos potenciais das unidades motoras e recrutamento precoce), ressonância nuclear magnética demonstrando edema muscular e estudo anatomopatológico do músculo demonstrando infiltrado inflamatório (5,6,32). A sua prevalência nos pacientes portadores de SAS varia de 50% - 90% e está relacionada parcialmente ao tipo de anticorpo presente (22,33). Os pacientes com anti-Jo-1 positivo apresentam maior incidência de miosite quando comparados aos pacientes com outros autoanticorpos anti-ARS (22).

O envolvimento pulmonar em SAS é resultante da inflamação e fibrose intersticial (1). A doença intersticial pulmonar se apresenta clinicamente com dispneia e tosse, e exames complementares demonstram achados típicos na tomografia computadorizada de tórax (por ex.: atenuação em vidro fosco, opacidades lineares e nodulares, fibrose pulmonar, bronquiectasias e faveolamento) (34,35). A prova de função pulmonar completa costuma apresentar distúrbio ventilatório restritivo, com redução da capacidade vital forçada (CVF) e redução da difusão do monóxido de carbono (DLCO), o volume expiratório forçado no 1º segundo (VEF1) costuma ser normal (17-19). Do ponto de vista histopatológico são encontrados aspectos relacionados a pneumopatia intersticial não específica (mais comum), pneumopatia intersticial usual, pneumonia organizante criptogênica e dano alveolar difuso com fibrose pulmonar (1,35,36). A

prevalência de doença pulmonar intersticial varia de 67% a 100% dos pacientes (17,36) e está mais relacionada aos anticorpos anti-PL-7, anti-PL-12 e anti-EJ (22).

O envolvimento articular em SAS também apresenta um espectro de manifestações clínicas. Esses pacientes podem apresentar artralgia, artrite não erosiva e não deformante, artrite deformante não erosiva e artrite erosiva deformante (rara) (17,37). Tem prevalência aproximada de 64% - 85% dos pacientes (17). Um estudo demonstrou que o momento de surgimento da doença articular pode determinar o prognóstico dessa manifestação nos pacientes com SAS, com tendência a desenvolvimento de quadros mais graves (incluindo quadros semelhantes a artrite reumatoide) para aqueles que apresentam essa manifestação no início da doença (28). O envolvimento articular é mais comum em pacientes com SAS com anticorpo anti-Jo-1 positivo em comparação com outros anti-ARS (22).

Estudos caracterizando as manifestações secundárias em SAS são escassos. Lesões cutâneas tipo “mãos de mecânico” são alterações hiperkeratóticas que produzem fissuras na face ulnar do polegar e nas faces radiais dos demais dígitos (38,39). Na histopatologia da pele são verificados acentuadas hiperqueratose, parakeratose focal e acantose psoriasiforme (38). Essas lesões estão associadas à presença de atividade de doença (39). Não existem estudos específicos sobre febre em SAS. Sabe-se que essa manifestação surge durante os períodos de atividade de doença (1). Em relação ao fenômeno de Raynaud, apesar de dados também escassos, é sabido que fenômeno de Raynaud grave com isquemia e necrose digital é incomum e, na capilaroscopia, pacientes com anticorpos anti-ARS e miopatia costumam apresentar neoangiogênese sem megacapilares (37).

1.6 Diagnóstico e classificação

Um critério diagnóstico amplamente validado e satisfatório em SAS ainda não existe na literatura (31). Os critérios mais utilizados nos estudos envolvendo pacientes com SAS são os critérios propostos por Connors *et al.* (3), em que o paciente deve ter obrigatoriamente um anticorpo anti-ARS associado a uma das características clínicas da doença: miosite, pneumopatia intersticial, artrite, febre persistente e inexplicada, fenômeno de Raynaud ou “mãos de mecânico”.

Outros critérios de classificação diagnóstica que merecem menção são os de Solomon *et al.* (40). Neste, são considerados critérios maiores a presença de miosite

ou doença intersticial pulmonar e são considerados critérios menores a presença de artrite, fenômeno de Raynaud ou “mãos de mecânico”. Para o diagnóstico são necessários a presença do anticorpo antissintetase mais dois critérios maiores ou um maior e dois menores.

Coortes recentes publicadas em SAS tem considerado como critério de entrada a presença de um anti-ARS associado a presença de um dos sintomas da tríade clássica (miosite, pneumopatia intersticial ou artrite) (22,27,30,33,41). É urgente a necessidade de critérios de classificação amplamente validados para fins de uniformizarmos a pesquisa clínica em SAS no mundo.

A SAS pode ser ainda classificada como forma completa, quando apresenta todas as manifestações da tríade clássica ou forma incompleta, quando apresenta apenas uma ou duas manifestações (22,27,30,33).

1.7 Anticorpos antissintetases

Sintetases são enzimas citoplasmáticas responsáveis por transportar aminoácidos específicos para o RNA transportador correspondente durante a fase de translação da síntese proteica (1). Os anticorpos anti-ARS, por sua vez, são dirigidos contra o complexo sintetase-RNA transportador (17). Apesar de existirem 20 tipos de sintetases em cada célula (uma para cada aminoácido), são descritos até o momento oito autoanticorpos anti-ARS: anti-Jo-1 (o mais comum), -PL-7, -PL-12, -OJ, -EJ, -KS, -YRS/Ha, -Zo (1,2,9).

Por serem autoanticorpos dirigidos contra antígenos citoplasmáticos, um padrão de imunofluorescência citoplasmático pontilhado pode ser observado na pesquisa de fator antinuclear em células HEp-2 em uma parte dos pacientes com SAS (37). Algumas observações sugerem que os anticorpos anti-ARS podem estar relacionados à fisiopatogênese da doença, demonstrando que as sintetases possuem funções além da síntese proteica, relacionadas a sinalização no processo inflamatório (42). Também existem descrições de correlação dos níveis séricos de anti-Jo-1 com atividade de doença (43).

Por fim, existe razoável carga de evidência na literatura de que anticorpos anti-ARS determinam parcialmente as características clínicas dos pacientes com SAS (4,12,26-28).

1.8 Biomarcadores em síndrome antissintetase

Determinar a presença e o papel biológico de biomarcadores é de fundamental importância na prática clínica em SAS. Estes podem ajudar a determinar o perfil de manifestações clínicas, presença de atividade de doença, prognóstico, além de representarem potenciais alvos terapêuticos.

Das moléculas estudadas até o momento, interferon (IFN)- α e o fator ativador de células B (BAFF ou BlyS) são as de maior relevância. IFN- α é uma citocina envolvida na resposta imune mediada por linfócitos T, produzida principalmente por células dendríticas e com importante papel na fisiopatogênese de algumas doenças autoimunes, como lúpus eritematoso sistêmico, síndrome de Sjögren e miopatias autoimunes sistêmicas (47). Foi demonstrado que os autoanticorpos anti-ARS podem atuar como indutores de IFN- α (48). Essa indução leva a alterações musculares e pode estar relacionada ao envolvimento pulmonar na doença (47). Em relação ao BAFF, demonstrou-se que a concentração sérica desta molécula está aumentada em SAS e este parece estar relacionado a presença e gravidade de manifestações clínicas (muscular e pulmonar). Existe evidência apontando também para redução do BAFF circulante com o tratamento e uma possível relação com atividade de doença (49).

Outra molécula de relevância em miopatias autoimunes sistêmicas, incluindo SAS, é a interleucina (IL) 17A. A IL-17A é produzida principalmente por células T auxiliaadoras tipo 17 (Th17), cuja diferenciação depende de citocinas como IL-6, IL-21, IL-23 e o *transforming growth factor beta* (TGF- β) (50). A IL-17A estimula a produção de várias citocinas pró-inflamatórias, como *tumoral necrosis factor alfa* (TNF α), IL-1, IL-6, IL-8 e outras (51,52), promovendo o recrutamento de células inflamatórias em diferentes tecidos e órgãos (52,53). IL-17A também está relacionada a interação dos linfócitos B e T que ocorre na resposta imune, auxiliando na proliferação de células B e na alteração do isotipo de imunoglobulina G (54). O uso de rituximabe, um depletor de linfócitos B, já foi associado a níveis séricos reduzidos de IL-17A no contexto de doenças autoimunes sistêmicas (37-39).

A possível ligação entre a IL-17A e a patogênese de várias doenças inflamatórias sistêmicas vem sendo descrita na literatura (5,12-17). Altos níveis séricos e teciduais de IL-17A foram descritos em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide, síndrome de Sjögren e também miopatias autoimunes sistêmicas (33,40-

43). Além disso, existem estudos demonstrando correlação entre os níveis séricos da IL-17A com a atividade da doença em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (38), artrite reumatoide (28) e miopatias autoimunes sistêmicas (50,61,62).

Apesar de existirem poucos estudos disponíveis na literatura, a relevância da IL-17A tem sido descrita em pacientes com dermatomiosite e polimiosite (15-19). Chevrel *et al.* (74) demonstraram expressão de IL-17A em biópsias musculares de pacientes com dermatomiosite e polimiosite. Posteriormente, alguns pesquisadores demonstraram aumento dos níveis séricos de IL-17A em dermatomiosite e polimiosite, principalmente em estágios iniciais de doença (63), e correlacionando com a atividade muscular e cutânea (61,62). Além disso, a IL-17A também se correlacionou com os níveis séricos de outras moléculas inflamatórias, como TNF- α e IFN- γ (61), sugerindo um papel importante da IL-17A na fisiopatogênese das miopatias autoimunes sistêmicas.

Em estudo recente envolvendo pacientes com SAS, foi demonstrado maior concentração de IL-17A sérica em comparação com controles saudáveis no início do estudo (62). O mesmo trabalho demonstrou ainda que IL-17A foi a única citocina relacionada a atividade de doença, apresentando relação inversa com a força muscular avaliada pelo *Manual Muscle Testing 8* (MMT-8), sugerindo um papel em potencial para IL-17A como biomarcador relacionado a desfechos clínicos. Apesar de apresentar dados promissores, o estudo apresenta algumas limitações. Foram incluídos apenas sete pacientes com SAS, todos positivos para autoanticorpo anti-Jo-1. A segunda análise bioquímica sorológica foi realizada apenas cinco meses depois do início do estudo, tempo insuficiente para conclusões fidedignas no contexto de doença autoimune crônica com surtos intermitentes de atividade. O pareamento de idade foi inadequado entre os grupos (média de 58 anos no grupo de estudo vs. média de 45 anos no grupo controle). Portanto, tornam-se necessários estudos com maior amostra de pacientes com SAS (incluindo pacientes com outros autoanticorpos além do anti-Jo-1) e adequadamente pareados em relação ao grupo controle para melhor entendimento do papel de IL-17A no manejo clínico da SAS. Até o momento, não existem estudos na literatura que avaliaram o comportamento de IL-17A em resposta ao tratamento medicamentoso em SAS.

2. Justificativa

Sendo a SAS uma entidade rara de descrição recente, com características clínicas, evolução e prognóstico distintos, torna-se importante a detecção de biomarcadores confiáveis e úteis que auxiliem na prática clínica.

Descrever um biomarcador relacionado à atividade de doença e que apresente comportamento típico ao diagnóstico e durante o tratamento pode auxiliar na elucidação diagnóstica, monitorização da resposta ao tratamento e ainda gerar dados para potenciais estudos futuros com tratamentos baseados em moléculas alvo-dirigidas.

3. Objetivo

Primários:

- 1) Avaliar em um corte transversal a concentração sérica de IL-17A em pacientes com SAS, comparando-os com indivíduos saudáveis;
- 2) Analisar prospectivamente a concentração sérica de IL-17A nos pacientes com SAS refratária e que iniciaram tratamento com rituximabe.

Secundários:

- 1) Analisar a correlação da concentração sérica de IL-17A com dados demográficos de pacientes portadores de SAS (idade, gênero, etnia);
- 2) Analisar a correlação da concentração sérica de IL-17A com dados clínicos de pacientes portadores de SAS, incluindo escores validados de atividade de doença: Escala Visual Analógica (EVA) do paciente, EVA do médico, *Health Assessment Questionnaire* (HAQ), MMT-8, *Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scales* (MYOACT);
- 3) Analisar a correlação da concentração sérica de IL-17A com dados da tomografia computadorizada de tórax de pacientes portadores de SAS;
- 4) Analisar a correlação da concentração sérica de IL-17A com dados da prova de função pulmonar de pacientes portadores de SAS;
- 5) Analisar a correlação da concentração sérica de IL-17A com a concentração sérica de CPK de pacientes portadores de SAS.

4. Materiais e Métodos

4.1 Desenho de estudo

Estudo realizado em um único centro, no período de 2017 a 2019, no qual foram incluídos 64 pacientes adultos consecutivos com SAS (**Figura 1**), em acompanhamento regular no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) - SP.

O estudo foi composto por duas fases:

- a) Primeiramente, foi realizado um corte transversal dos pacientes com SAS que foram pareados por sexo, idade e etnia com 64 indivíduos saudáveis, para análise da concentração sérica da IL-17A;
- b) Na segunda parte do estudo, a concentração sérica de IL-17A foi avaliada prospectivamente por 12 meses nos pacientes com SAS refratários e que receberam rituximabe.

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética local (CAAE: 93514918.0.0000.0068) e todos os pacientes assinaram um termo de consentimento informado.

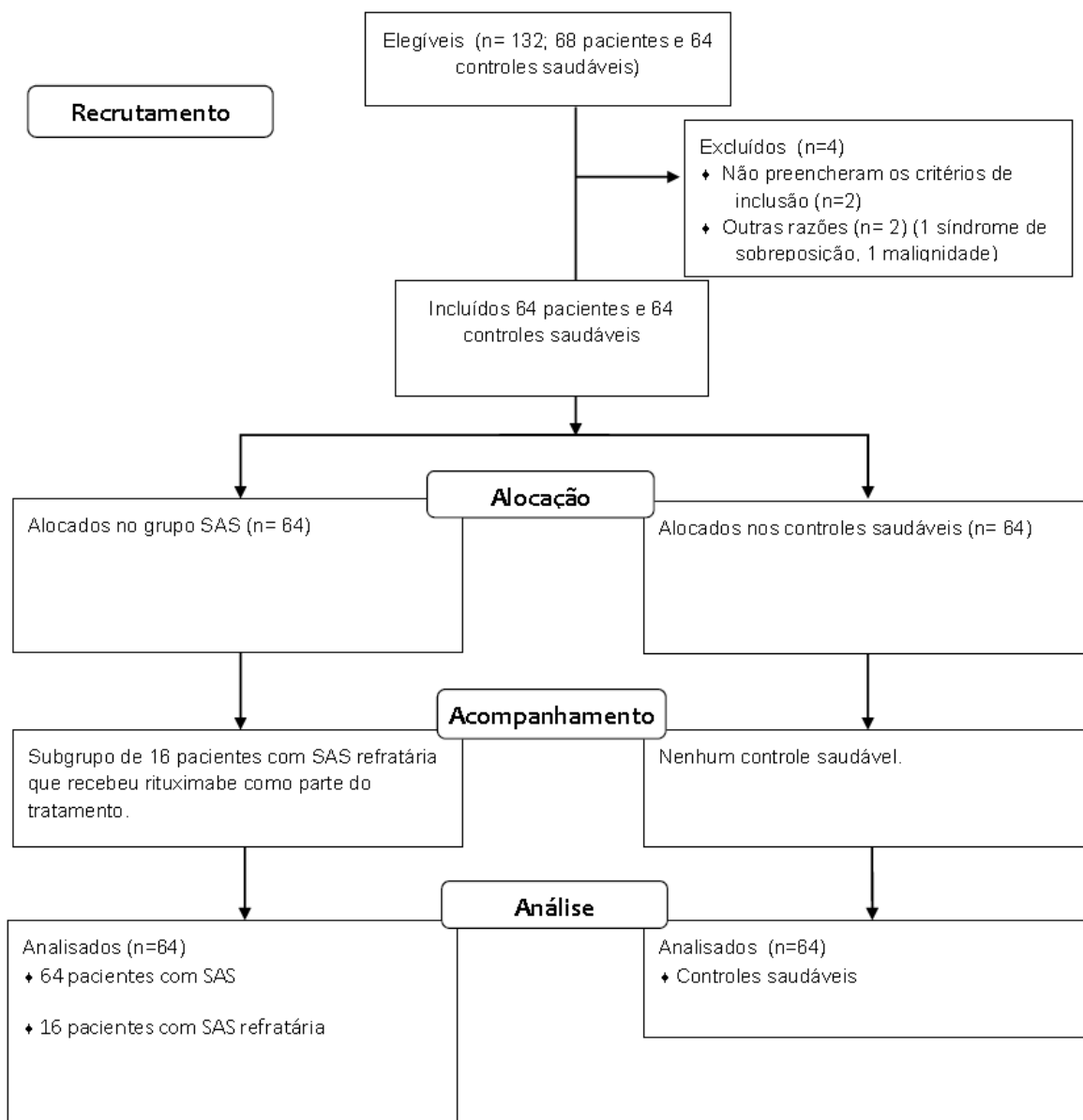
4.2 Critérios de inclusão

Todos os pacientes preencheram os critérios de classificação de SAS sugeridos por Connors *et al.* (3), mas com modificações para aumentar a especificidade: presença de autoanticorpo anti-ARS e pelo menos duas das três manifestações principais da doença: envolvimento muscular, articular e/ou pulmonar. Além disto, a presença de pelo menos um dos seguintes itens: “mãos de mecânico”, fenômeno de Raynaud, febre de origem indeterminada (61,65).

4.3 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão incluíram pacientes com síndrome de sobreposição, miosite associada a malignidades, infecções agudas e crônicas, comorbidades graves e descompensadas (por ex.: hepatopatias, nefropatias e cardiopatias).

Figura 1 - Fluxograma de seleção de pacientes para o estudo



SAS: síndrome antissintetase.

4.4 Método

Os pacientes foram avaliados clinicamente e foi realizada uma entrevista padronizada. As seguintes informações foram coletadas:

- a) Dados demográficos: idade atual, etnia, gênero;
- b) Dados clínicos e laboratoriais: idade no início da doença, duração da doença, ocorrência de surtos de atividade, manifestações presentes no início da doença, manifestações que surgiram durante o acompanhamento, comorbidades (hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, tabagismo, hipotireoidismo, história prévia de infarto agudo do miocárdio e/ou acidente vascular cerebral);
- c) *Status* da doença: baseado nos escores de *International Myositis Assessment and Clinical Studies Groups* (IMACS) (66), que inclui a aplicação de questionários: MMT-8 (67), MYOACT, HAQ (68), avaliação global de doença pelo médico e pelo paciente baseadas em escala visual analógica (69). Além disto, a avaliação da concentração sérica de CPK (valor de referência: 26 - 192 U/L), aldolase (< 7.6 U/L), alanina aminotransferase (ALT, < 31 U/L), aspartato aminotransferase (AST, < 31 U/L), desidrogenase láctica (DHL, 135 - 214 U/L) - método cinético.
- d) A identificação de autoanticorpos anti-ARS (anti-Jo-1, PL-7, PL-12, OJ e -EJ) foi feita por *line blot test* em um *kit* comercialmente disponível (*Myositis Profile Euroline Blot test kit*, Euroimmun, Lübeck, Alemanha). A análise foi realizada de acordo com método previamente estabelecido (70). Para detecção de fator antinuclear foi utilizada imunofluorescência indireta usando células HEp-2;
- e) Parâmetros pulmonares foram avaliados por tomografia computadorizada de tórax e prova de função pulmonar completa com análise de capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no 1º segundo (VEF1) e difusão do monóxido de carbono (DLCO). O envolvimento pulmonar foi definido como presença de sinais tomográficos sugestivos de pneumopatia secundária a SAS e/ou presença de distúrbio restritivo ou redução da difusão de monóxido de carbono na prova de função pulmonar. Em pacientes refratários que receberam rituximabe como parte do tratamento, novas tomografia computadorizada de tórax e prova de função pulmonar foram realizadas 6 - 12 meses após a 1ª aplicação desta medicação;
- f) Tratamento: glicocorticoides e imunossupressores / imunomoduladores.

Pacientes com SAS refratária foram definidos como aqueles que apresentaram uma resposta inadequada a pelo menos dois imunossupressores / imunomoduladores

(ciclofosfamida, azatioprina, metotrexato, ciclosporina, leflunomida e micofenolato de mofetila) em dose terapêutica, por um período mínimo de três meses, administrados em combinação ou de forma sequencial. Resposta inadequada foi definida como manutenção de atividade clínica de doença (artrite, fraqueza muscular, piora em teste de função pulmonar e/ou tomografia computadorizada de tórax, febre atribuída a atividade de doença) ou novos surtos de atividade clínica de doença na tentativa de desmamar glicocorticoide.

Resposta clínica do paciente foi definida como mínima, moderada ou maior de acordo com os critérios do *American College of Rheumatology / European League Against Rheumatism 2016* para adultos com polimiosite e dermatomiosite (66).

Infecções graves foram definidas de acordo com a necessidade de hospitalização ou antibiótico parenteral. Eventos adversos graves foram definidos como morte, evento ameaçador a vida, incapacitante ou clinicamente significativo o suficiente para necessitar de intervenção médica.

O tratamento com rituximabe consistiu em duas infusões (1 g cada com intervalo de duas semanas) e esse mesmo esquema foi repetido a cada seis meses por dois anos em pacientes que apresentaram resposta clínica. Realizamos nova coleta de informações (demográficas, clínicas e laboratoriais) e coleta de soro após seis e 12 meses da primeira aplicação nos pacientes submetidos a este tratamento.

Amostras de sangue foram coletadas e imediatamente centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos e então armazenadas a - 80 °C para análise posterior de citocina (IL-17). A quantificação de IL-17A foi realizada por *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) de acordo com o protocolo do fabricante (RayBiotech, *Peachtree Corners*, Georgia, EUA). Uma fração das amostras de sangue venoso também foi utilizada para análise das concentrações séricas de CPK, aldolase, ALT, AST, DHL.

4.5 Grupo controle

Acompanhantes dos pacientes ou funcionários da nossa instituição foram selecionados como grupo controle. Toda a análise laboratorial foi realizada no grupo controle e as entrevistas e questionários foram aplicados, exceto os relacionados à atividade de doença.

4.6 Análise estatística

O teste de *Shapiro-Wilk* foi utilizado para avaliar a distribuição de cada parâmetro. Os resultados foram apresentados como mediana (interquartil 25% - 75%) ou média \pm desvio padrão para variáveis contínuas, enquanto as variáveis categóricas foram apresentadas como frequência (%). Os resultados foram comparados pelos testes de *t*-Student ou Mann-Whitney para variáveis contínuas para determinar diferenças entre pacientes com SAS e o grupo controle. Para comparações entre pacientes tratados com rituximabe (pré e pós medicação), foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Diferenças em variáveis categóricas foram calculadas pelo teste exato de Fisher e χ^2 de Pearson. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes com valores de $P < 0,05$. A análise estatística foi realizada utilizando o programa SPSS, versão 15.0 (Chicago, Illinois, EUA).

5. Resultados

5.1 Características gerais dos pacientes

Sessenta e quatro pacientes com SAS e 64 indivíduos saudáveis foram avaliados. A média de idade no diagnóstico da doença foi $41,5 \pm 12,8$ anos, com predominância do sexo feminino e etnia branca nos dois grupos (**Tabela 1**). Aproximadamente 90% dos pacientes apresentaram pelo menos uma manifestação principal (muscular, articular e/ou pulmonar). As prevalências de “mãos de mecânico”, fenômeno de Raynaud e febre foram, respectivamente, 89,1%, 78,1% e 71,9%. Em relação às características laboratoriais, 81,3% dos pacientes apresentaram fator antinuclear positivo e o principal autoanticorpo anti-ARS foi anti-Jo-1 (82,8%), seguido de anti-PL-7 (6,3%), anti-PL-12 (6,3%) e anti-EJ (4,7%). Nenhum paciente apresentou anti-OJ. A concentração sérica mediana inicial de CPK foi 3105 (632 - 8463) U/L. Além disso, 40 (62,5%) pacientes apresentaram sinais de doença intersticial pulmonar, 46 (71,9%) apresentavam opacidades em vidro fosco e 11 (17,2%) apresentavam sinais de fibrose pulmonar na TC de tórax.

5.2 Primeira fase: corte transversal

No momento da análise transversal, a média de idade dos pacientes era de $44,8 \pm 11,8$ anos, com duração mediana de doença de 1,5 (0,0 - 4,0) anos. O grupo de pacientes foi semelhante ao grupo controle em relação a distribuição de idade, gênero e etnia ($P > 0,05$).

Em relação ao envolvimento pulmonar, 33 (51,5%) pacientes apresentavam sinais de pneumopatia intersticial, 32 (50,0%) com opacidades em vidro fosco e 20 (31,2%) com sinais de fibrose pulmonar na tomografia computadorizada de tórax. Analisando os parâmetros de espirometria, o valor mediano de CVF foi de 62,5 (48,0 - 73,5) %, FEV1 de 64,0 (49,0 - 77,0) % e DLCO de 61,0 (37,8 - 73,0) %, conforme apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 1 - Dados demográficos, características clínicas, parâmetros laboratoriais e tomografia computadorizada do tórax dos pacientes com síndrome antissintetase no momento do diagnóstico

Parâmetros	n=64
Idade ao diagnóstico (anos)	41,5±12,8
Sexo feminino	53 (82,8)
Cor branca	47 (73,4)
Características clínicas iniciais e cumulativas	
Envolvimento muscular	61 (95,3)
Envolvimento articular	59 (92,2)
Envolvimento pulmonar	57 (89,1)
“Mãos de mecânico”	57 (89,1)
Fenômeno de Raynaud	50 (78,1)
Febre	46 (71,9)
Características laboratoriais	
Fator antinuclear	52 (81,3)
Anti-Jo-1	53 (82,8)
Anti-PL-7	4 (6,3)
Anti-PL-12	4 (6,3)
Anti-EJ	3 (4,7)
Anti-OJ	0
Creatinofosfoquinase inicial (U/L)	3105 (632-8463)
Tomografia de tórax inicial	
Opacidades em vidro fosco	46 (71,9)
Pneumopatia intersticial	40 (62,5)
Fibrose pulmonar	11 (17,2)

Dados apresentados como média ± desvio padrão, mediana (interquartil 25% - 75%) ou frequência (%).

Tabela 2 - Dados demográficos, tomografia computadorizada de tórax e testes de função pulmonar dos pacientes com síndrome antissintetase no momento da inclusão no estudo

Parâmetros	n=64
Idade atual (anos)	44,8±11,8
Duração da doença (anos)	1,5 (0,0-4,0)
Tomografia computadorizada de tórax atual	
Pneumopatia intersticial	33 (51,5)
Opacidades em vidro fosco	32 (50,0)
Fibrose pulmonar	20 (31,2)
Testes de função pulmonar atuais	
CVF (% do predito)	62,5 (48,0-73,5)
VEF1 (% do predito)	64,0 (49,0-77,0)
R (VEF1/CVF)	1,00 (0,93-1,08)
Capacidade de difusão do CO (% do predito)	61,0 (37,8-73,0)
Tratamento com glicocorticoide	
Uso atual	46 (71,9)
Dose atual (mg/dia) *	10,0 (0,0-40,0)
Drogas imunossupressoras atuais **	
Uma	36 (56,2)
Duas	8 (12,5)

Dados apresentados como média ± desvio padrão, mediana (interquartil 25% - 75%) ou frequência (%).

CVF: capacidade vital forçada; VEF1: volume expiratório forçado no 1º segundo; Razão: VEF1/CVF; CO: monóxido de carbono

* equivalente à prednisona

** Azatioprina (2 - 3 mg/kg/dia), ciclosporina (3,0 – 5,0 mg/kg/dia), leflunomida 20 mg/dia, metotrexato (15 - 25 mg/semana), micofenolato de mofetila (2 - 3 g/dia), rituximabe [1 g, intravenoso, tempo zero e após 15 dias (primeiro ciclo) repetindo esse esquema após 6 meses], e/ou imunoglobulina humana intravenosa (1g/kg, 1x/dia, dois dias consecutivos).

Aproximadamente três quartos dos pacientes com SAS estavam utilizando glicocorticoide, com uma dose mediana de 10 (0 - 40) mg/dia de prednisona. Além disso, metade dos pacientes estava utilizando pelo menos um imunossupressor / imunomodulador (**Tabela 2**).

A **Tabela 3** traz informações sobre o *status* de doença no momento da análise transversal. A maioria dos pacientes apresentava doença controlada no momento da entrevista.

A concentração sérica de IL-17A foi superior no grupo de pacientes com SAS, quando comparados ao grupo controle: 9,66 (9,04 - 10,36) pg/mL vs. 7,71 (5,73 - 9,03) pg/mL, respectivamente; ($P < 0.001$), como demonstrado na tabela 3. IL-17A sérica não apresentou correlação com os parâmetros de IMACS (EVA do paciente, EVA do médico, HAQ, MMT-8, MYOACT) e outras características clínicas e demográficas analisadas no grupo SAS (idade, duração de doença, gênero, etnia, CPK sérica, testes de função pulmonar, tipo de tratamento).

Tabela 3 - Estado de doença e concentração sérica de interleucina-17A em pacientes com síndrome antissintetase e controles saudáveis

Parâmetros	SAS (n=64)	Controles (n=64)	P
EVA do paciente (0-10 cm)	4,0 (2,0-6,0)	-	-
EVA do médico (0-10 cm)	3,0 (0,0-5,0)	-	-
HAQ (0,00-3,00)	0,67 (0,13-1,38)	-	-
MMT-8 (0-80)	78 (71-80)	-	-
MYOACT (0-60)	4,0 (0,5-12,5)	-	-
CPK (U/L)	208 (98-597)	106 (78-161)	<0,01
Aldolase (U/L)	6,2 (4,4-18,3)	4,0 (3,2-5,3)	<0,01
DHL (U/L)	352 (243-590)	346 (317-405)	0,93
AST (U/L)	24 (17-37)	20 (16-23)	0,01
ALT (U/L)	24 (16-57)	18 (13-25)	0,03
IL-17A (pg/mL)	9,66 (9,04-10,36)	7,71 (5,73-9,03)	<0,01

Dados apresentados como mediana (interquartil 25% - 75%).

ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; CPK: creatinofosfoquinase; DHL: Desidrogenase láctica; HAQ: *Health Assessment Questionnaire*; IL: interleucina; MMT: *Manual Muscle Testing*; MYOACT: *Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scales*; EVA: escala visual analógica; SAS: síndrome antissintetase.

5.3 Segunda fase: Análise prospectiva

Dezesseis (25%) dos 64 pacientes com SAS foram incluídos nesta análise. A média de idade dos pacientes foi de $43,1 \pm 10,1$ anos, com duração mediana de doença de 1,5 (0,0-5,8) anos, com 81,2% de mulheres e 56,2% de etnia branca.

A atividade muscular foi a razão principal para introdução de rituximabe (75,0% dos pacientes), enquanto que em 43,8% e 31,3% dos pacientes, as indicações foram, respectivamente, em razão de atividade pulmonar e articular.

Devido à doença refratária, um quarto dos pacientes com SAS com sinais de doença grave de acordo com diretriz local (fraqueza muscular grave, úlceras cutâneas, doença intersticial pulmonar e disfagia grave) (71) receberam pulsoterapia com metilprednisolona (1 g/dia por 3 dias consecutivos) e/ou imunoglobulina intravenosa (1 g/kg/dia por 2 dias consecutivos) antes de iniciar o tratamento de indução com rituximabe para remissão de doença (**Tabela 4**).

Com a exceção para a concentração sérica de CPK, todos os parâmetros de IMACS melhoraram de forma significativa após 12 meses de terapia com rituximabe. A média dos parâmetros de IMACS apresentou uma resposta maior neste subgrupo, de acordo com critério internacional de resposta em miosites (66).

A mediana de concentração sérica de IL-17A diminuiu de 9,66 (9,14 - 10,58) pg/mL para 9,04 (8,20 - 9,66) pg/mL, durante os 12 meses de tratamento com rituximabe ($p = 0,005$).

Além disso, no início do tratamento com rituximabe, esses pacientes apresentavam CVF mediana de 66,0% do predito (51,0 - 80,0) e VEF1 de 64,5% do predito (52,3 - 75,0). No período de 6 a 12 meses após o início do tratamento, não houve variação significativa destes parâmetros. Em relação à tomografia computadorizada de tórax, no início do tratamento com rituximabe, 87,5% dos pacientes tinham sinais de doença pulmonar intersticial, com 75% demonstrando opacidades em vidro fosco e 31,2% demonstrando sinais de fibrose pulmonar. No final dos 12 meses de acompanhamento, tomografia computadorizada de tórax de controle demonstrou que 68,7% dos pacientes tinham sinais de doença intersticial pulmonar, 56,2% tinham opacidades em vidro-fosco, e 43,7% apresentavam sinais de fibrose pulmonar. Entretanto, essas variações não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

Em relação ao tratamento, esses pacientes demonstraram uma significativa redução na dose de glicocorticoide após introdução de rituximabe: 20 (10,6 - 40,0) mg/dia no início vs. 5 (0,0 - 12,5) mg/dia em 12 meses ($P = 0,002$).

Nenhum paciente apresentou infecção grave, evento adverso grave ou diagnóstico de neoplasia durante o primeiro ano de tratamento.

Tabela 4 - Avaliação no início do tratamento, 6 e 12 meses após uso de rituximabe nos 16 pacientes com síndrome antissintetase refratária

	Início do tratamento	6 meses	12 meses	Δ% 12m vs. Início	P 12m vs. Início
MMT-8 (0-80)	71 (65-80)	77 (74-80)	78 (73-80)	9,8	0,02
HAQ (0,00-3,00)	1,00 (0,50-1,38)	0,63 (0,25-0,88)	0,50 (0,00-1,00)	-50	0,03
EVA do paciente (0-10 cm)	5,5 (4,0-7,0)	2,0 (1,0-5,5)	1,6 (0,0-4,5)	-70,9	0,01
EVA do médico (0-10 cm)	4,0 (3,0-5,0)	2,0 (1,0-3,5)	1,0 (0,0-1,8)	-75,0	0,02
MYOACT	8,0 (2,0-13,0)	3,5 (0,0-6,3)	0,0 (0,0-2,0)	-100	0,04
CPK (U/L)	455 (143-906)	126 (60-213)	112 (58-305)	-75,4	0,30
IL-17A (pg/mL)	9,66 (9,14-10,58)	9,33 (8,77-10,36)	9,04 (8,20-9,66)	-6,4	0,01
Tratamento					
Dose de prednisona (mg/dia)	20,0 (10,6-40,0)	7,2 (2,5-15,0)	5,0 (0,0-12,5)	-75	0,01
MP	4 (25,0)	-	-	-	-
IGIV	4 (25,0)	-	-	-	-
TC de tórax atual					
Pneumopatia intersticial	14 (88)	-	11 (69)	-	0,33
Opacidade em vidro fosco	12 (75)	-	9 (56)	-	0,42
Fibrose pulmonar	5 (31)	-	7 (44)	-	0,71
	Início do tratamento	6-12 meses		Δ%	P
Prova de função pulmonar atual					
CVF (% do predito)	66,0 (51,0-80,0)	68,5 (56,0-77,8)		3,7	0,88
VEF1 (% do predito)	64,5 (52,3-75,0)	64,5 (59,0-82,5)		0	0,63

Resultados expressos em porcentagem (%), média ± desvio padrão ou mediana (interquartil 25% - 75%).

CPK: creatinofosfoquinase; CVF: capacidade vital forçada; EVA: escala analógica visual; HAQ: *Healthy Assessment Questionnaire*; IGIV: imunoglobulina intravenosa humana; IL: interleucina; MMT: *Manual Muscle Testing*; MP: metilprednisolona; MYOACT: *Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scale*; TC: tomografia computadorizada; VEF1: volume expiratório forçado no 1º segundo; Δ%: variação em porcentagem.

6. Discussão

Este foi o primeiro estudo a demonstrar o aumento de concentração sérica de IL-17A em uma amostra exclusiva de pacientes com SAS, com outros anticorpos anti-ARS além de anti-Jo1. Além disso, a IL-17A reduziu de forma significativa durante o tratamento com rituximabe em pacientes com SAS refratária.

O presente estudo apresenta alguns avanços importantes. Pela primeira vez, a IL-17A foi comparada entre uma população estrita de pacientes com SAS com anticorpos anti-ARS variados e controles saudáveis. Uma amostra homogênea e representativa de pacientes com SAS foi incluída, mesmo após aplicação de critérios de inclusão restritos para uma condição rara. Nossos pacientes foram pareados para idade, gênero e etnia com o grupo controle, de modo a controlar o efeito dessas variáveis como confundidoras na análise estatística. Em conjunto com os dados clínicos e parâmetros de atividade de doença de acordo com IMACS (66), nós apresentamos também informações relacionadas ao tratamento. Além da análise transversal, também incluímos uma análise prospectiva da subpopulação de pacientes que receberam rituximabe como parte do tratamento. Uma vez incluídos dados relacionados ao tratamento, incluindo análise prospectiva em um subgrupo específico de pacientes, ampliamos a análise do papel de IL-17A em SAS, gerando hipóteses sobre a utilidade desse biomarcador enquanto parâmetro de monitorização da resposta a medicações.

A SAS foi mais comum em mulheres e em pacientes de etnia branca, em concordância com estudos prévios (20,46,47,72,73). Apesar da falta de uniformidade na literatura em relação à definição do envolvimento orgânico em SAS, com grande variação entre o que foi definido nos estudos prévios, nossos pacientes demonstraram uma elevada prevalência de envolvimento muscular, articular e pulmonar e também uma elevada frequência de fenômeno de Raynaud no momento da avaliação transversal. Provavelmente isso se deve a presença de doença estabelecida na maioria dos pacientes.

Em relação aos dados dos pacientes no momento da análise transversal, baseados nos parâmetros de IMACS, a maioria dos pacientes apresentava doença controlada. Porém, três quartos dos pacientes ainda estavam utilizando glicocorticoide, com uma dose média de 10 mg/dia de prednisona. Esses dados sugerem que na nossa prática habitual ainda dependemos de doses moderadas de

glicocorticoide para controle de doença em SAS. Sendo esta medicação sabidamente associada a eventos adversos como ganho de peso, diabetes e osteoporose, necessitamos, portanto, de estratégias mais efetivas para controle de atividade de doença com o uso da menor dose possível de corticosteroides, incluindo para isso o uso de biomarcadores.

Em relação às citocinas, nossos pacientes portadores de SAS apresentaram aumento da concentração sérica de IL-17A quando comparados com controles saudáveis. Embora o aumento de IL-17A já tenha sido demonstrado no contexto de miopatias autoimunes sistêmicas (43-45,55), o presente estudo demonstrou pela primeira vez o aumento de IL-17A em uma amostra estrita de pacientes com SAS incluindo outros anticorpos anti-ARS além do autoanticorpo anti-Jo-1. A IL-17A é relacionada a diversas vias do processo inflamatório, participando como um co-estímulo para a produção de várias citocinas pró-inflamatórias, como INF- α , IL-1, IL-6, IL-8, auxiliando na gênese e perpetuação da inflamação (51–53). Nossos dados nos levam a acreditar que existe um desbalanço da produção de IL-17A também em SAS, que pode contribuir tanto para gênese como para a manutenção da doença. Contudo, em nosso estudo, IL-17A não se relacionou com parâmetros demográficos, clínicos ou laboratoriais. Esses dados diferem de estudos prévios na literatura que demonstraram associação entre IL-17A com atividade de doença em miopatias autoimunes sistêmicas (61) e em outras doenças reumáticas sistêmicas (51,59). Silva *et al.* (61) demonstraram relação direta entre IL17-A com IMACS em pacientes com polimiosite e dermatomiosite, com exceção do MMT-8. Nossa população apresentou parâmetros de atividade de doença mais elevados em todos os domínios mensurados pelos critérios IMACS em comparação com os pacientes daquele estudo, com exceção do MMT-8, que apresentou valor semelhante. Esta diferença também pode ter tornado nossos resultados diferentes dos deles. Como uma entidade clínica distinta (75), particularidades da fisiopatologia de SAS, diferentes de pacientes com dermatomiosite / polimiosite podem explicar discrepâncias observadas na correlação laboratorial destas com atividade de doença.

Após a análise transversal, realizamos uma avaliação da subpopulação de pacientes com SAS que utilizaram rituximabe devido a atividade de doença refratária, com avaliações prospectivas em seis e 12 meses após o início desta medicação. No início do acompanhamento destes pacientes, este subgrupo

apresentava piores índices de atividade de doença em todos os domínios de IMACS quando comparados a população geral de pacientes com SAS. Também observamos que todos os parâmetros de atividade de doença melhoraram significativamente nos primeiros 12 meses de tratamento com rituximabe, em concordância com estudos prévios (57-60).

A concentração sérica de IL-17A reduziu de uma forma significativa em pacientes com SAS durante o tratamento com rituximabe. Um estudo envolvendo pacientes com lúpus eritematoso sistêmico demonstrou que rituximabe pode aumentar os níveis de linfócitos T regulatórios, responsáveis por suprimir a proliferação de linfócitos (80). Como IL-17A é principalmente produzida por uma subpopulação de linfócitos T (Th17), essa ação poderia justificar uma redução na produção desta interleucina. A redução nos níveis de IL-17A apresentada neste trabalho nos pacientes com SAS que receberam rituximabe pode estar além da depleção de linfócitos B. De Veerdonk *et al.* (56) demonstraram em pacientes com artrite reumatoide que rituximabe reduz a população de células Th17 (a principal fonte de IL-17A) no tecido sinovial. Esse mesmo trabalho revelou que esta ação foi independente, uma vez que neste estudo rituximabe não interferiu com células T regulatórias e resposta Th1. Também nesse estudo, os autores demonstraram que, na presença de rituximabe, células produtoras de IL-17A *in vitro* demonstraram uma importante redução na produção desta citocina e esses resultados se mantiveram em pacientes com agamaglobulinemia, que não tem linfócitos B funcionais, sugerindo que a ação do rituximabe na população Th17 é independente da depleção de linfócitos B. Outra possível explicação para o efeito do tratamento com rituximabe na resposta mediada por IL-17A está no trabalho de Alunno *et al.* (57), onde esses autores demonstraram que em pacientes com síndrome de Sjögren existe uma subpopulação de células Th17 que coexpressam CD20 na superfície celular e apresentaram uma significativa redução após o tratamento com rituximabe. Esses trabalhos sugerem fortemente que existe um mecanismo pelo qual rituximabe suprime a resposta Th17 a despeito da depleção de linfócitos B, que ainda não foi completamente elucidado. Também já foi demonstrado que rituximabe pode afetar a população de linfócitos T em outras doenças autoimunes sistêmicas (81). Rituximabe parece interferir com a coestimulação entre linfócitos B e linfócitos T (54,82), processo no qual IL-17A também parece ter importância (54). Como IL-17A é principalmente produzida por uma subpopulação de Th17, essas possíveis ações

de rituximabe podem explicar a redução de expressão de IL-17A observada no nosso estudo em pacientes recebendo esta medicação. Um estudo prévio não demonstrou interferência do tratamento na concentração sérica de IL-17A em pacientes com polimiosite e dermatomiosite (61).

Como limitações do presente estudo, trata-se de uma avaliação observacional em uma amostra de conveniência e, portanto, suscetível a viés de seleção e não controlada para outras variáveis que podem interferir com os resultados. Nem todos os pacientes apresentavam tomografia computadorizada de tórax e testes de função pulmonar completos nos períodos analisados.

7. Conclusões

Pacientes com SAS tem a concentração sérica de IL-17A aumentada quando comparados com controles saudáveis. Esses pacientes também apresentaram uma queda na concentração sérica de IL-17A quando tratados com rituximabe. Logo, o presente trabalho gera hipóteses para estudos futuros nesta área, que irão identificar o papel do tratamento e de medicações específicas no comportamento desta citocina nas doenças autoimunes sistêmicas, incluindo SAS.

8. Referências

1. Katzap E, Barilla-LaBarca ML MG. Antisynthetase syndrome. *Curr Rheumatol Rep* 2011;13:175–181.
2. Cojocaru M, Cojocaru IM, Chicos B. New insights into antisynthetase syndrome. *Maedica (Buchar)* 2016;11:130–135.
3. Connors GR, Christopher-Stine L, Oddis C V., Danoff SK. Interstitial lung disease associated with the idiopathic inflammatory myopathies: What progress has been made in the past 35 years? *Chest* 2010;138:1464–1474.
4. Lega JC, Fabien N, Reynaud Q, Durieu I, Durupt S, Dutertre M, et al. The clinical phenotype associated with myositis-specific and associated autoantibodies: A meta-analysis revisiting the so-called antisynthetase syndrome. *Autoimmun Rev* 2014;13:883–891.
5. Lundberg IE, Visser M De, Werth VP. Classification of myositis. *Nat Rev Rheumatol* 2018;14:269–278.
6. Selva-O'Callaghan A, Pinal-Fernandez I, Trallero-Araguás E, Milisenda JC, Grau-Junyent JM, Mammen AL. Classification and management of adult inflammatory myopathies. *Lancet Neurol* 2018;17:816–828.
7. Mammen AL. Autoimmune myopathies. *Contin Lifelong Learn Neurol* 2016;22:1852–1870.
8. Mescam-Mancini L, Allenbach Y, Hervier B, Devilliers H, Mariampillay K, Dubourg O, et al. Anti-Jo-1 antibody-positive patients show a characteristic necrotizing perifascicular myositis. *Brain* 2015;138:2485–2492.
9. Marco JL, Collins BF. Clinical manifestations and treatment of antisynthetase syndrome. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2020:101503.
10. Wasicek CA, Reichlin M, Montes M, Raghu G. Polymyositis and interstitial lung disease in a patient with anti-Jo1 prototype. *Am J Med* 1984;76:538–544.
11. Marguerie C, Bunn CC, Beynon HLC, Bernstein RM, Hughes JMB, So AK, et al. Polymyositis, pulmonary fibrosis and autoantibodies to aminoacyl-tRNA synthetase enzymes. *Qjm* 1990;77:1019–1038.
12. Bernstein RM, Morgan SH, Chapman J, Bunn CC, Mathews MB, Turner-Warwick M, et al. Anti-Jo-1 antibody: A marker for myositis with interstitial lung disease. *Br Med J* 1984;289:151–152.
13. Yoshida S, Akizuki M, Mimori T, Yamagat H, Inada S, Homma M. The

- precipitating antibody to an acidic nuclear protein antigen, the Jo-1, in connective tissue diseases. *Arthritis Rheum* 1983;26:604–611.
14. Targoff IN, Arnett FC, Reichlin M. Antibody to threonyl-transfer rna synthetase in myositis sera. *Arthritis Rheum* 1988;31:515–524.
 15. Mathews MB, Bernstein RM. Myositis autoantibody inhibits histidyl-tRNA synthetase: a model for autoimmunity. *Nature* 1983;304:177–179.
 16. Nishikai M, Reichlin M. Heterogeneity of precipitating antibodies in polymyositis and dermatomyositis. Characterization of the Jo-1 antibody system. *Arthritis Rheum*. 1980;23:881-888.
 17. Imbert-Masseau A, Hamidou M, Agard C, Grolleau JY CP. Antisynthetase syndrome. *Jt Bone Spine* 2003;70:161–168.
 18. Noguchi E, Uruha A, Suzuki S, Hamanaka K, Ohnuki Y, Tsugawa J, et al. Skeletal muscle involvement in antisynthetase syndrome. *JAMA Neurol* 2017;74:992–999.
 19. Shinjo SK, Levy-Neto M. Anti-Jo-1 antisynthetase syndrome. *Rev Bras Reumatol* 2010;50:496–500.
 20. Souza FHC De, Cruellas MGP, Levy-Neto M, Shinjo SK. Síndrome antissintetase: Anti-PL-7, anti-PL-12 e anti-EJ. *Rev Bras Reumatol* 2013;53:352–357.
 21. Rojas-Serrano J, Herrera-Bringas D, Mejía M, Rivero H, Mateos-Toledo H, Figueroa JE. Prognostic factors in a cohort of antisynthetase syndrome (ASS): serologic profile is associated with mortality in patients with interstitial lung disease (ILD). *Clin Rheumatol* 2015;34:1563–1569.
 22. Cavagna, Trallero-Araguás, Meloni, Cavazzana, Rojas-Serrano, Feist, et al. Influence of Antisynthetase antibodies specificities on antisynthetase syndrome clinical spectrum time course. *J Clin Med* 2019;8:2013.
 23. FW M. Humoral immunity and immunogenetics in the idiopathic inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol* 1991;3:902–910.
 24. Ascherman DP. Role of Jo-1 in the Immunopathogenesis of the anti-synthetase syndrome. *Curr Rheumatol Rep* 2015;17:1–7.
 25. Katsumata Y, Ridgway WM, Oriss T, Gu X, Chin D, Wu Y, et al. Species-specific immune responses generated by histidyl-tRNA synthetase immunization are associated with muscle and lung inflammation. *J Autoimmun* 2007;29:174–186.
 26. Hirakata M NS. Interstitial lung disease in polymyositis and dermatomyositis.

- Curr Opin Rheumatol* 2000;12:501–508.
27. Cavagna L, Nuño L, Scirè CA, Govoni M, Longo FJL, Franceschini F, et al. Clinical spectrum time course in anti Jo-1 positive antisynthetase syndrome: Results from an international retrospective multicenter study. *Med (United States)* 2015;94:e1144.
 28. González-Gay MA, Montecucco C, Selva-O'Callaghan A, Trallero-Araguas E, Molberg O, Andersson H, et al. Timing of onset affects arthritis presentation pattern in antisynthetase syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2018;36:44–49.
 29. Cavagna L, Nuño L, Scirè CA, Govoni M, Longo FJL, Franceschini F, et al. Serum Jo-1 Autoantibody and isolated arthritis in the antisynthetase syndrome: review of the literature and report of the experience of AENEAS Collaborative Group. *Clin Rev Allergy Immunol* 2017;52:71–80.
 30. Bartoloni E, Gonzalez-Gay MA, Scirè C, Castaneda S, Gerli R, Lopez-Longo FJ, et al. Clinical follow-up predictors of disease pattern change in anti-Jo1 positive anti-synthetase syndrome: Results from a multicenter, international and retrospective study. *Autoimmun Rev* 2017;16:253–257.
 31. Cavagna L, Castañeda S, Sciré C, Gonzalez-Gay MA. Antisynthetase syndrome or what else? Different perspectives indicate the need for new classification criteria. *Ann Rheum Dis* 2018;77:2018.
 32. Mammen AL. Autoimmune myopathies: Autoantibodies, phenotypes and pathogenesis. *Nat Rev Neurol* 2011;7:343–354.
 33. Monti S, Montecucco C, Cavagna L. Clinical spectrum of anti-Jo-1-associated disease. *Curr Opin Rheumatol* 2017;29:612–617.
 34. Takato H, Waseda Y, Watanabe S, Inuzuka K, Katayama N, Ichikawa Y, et al. Pulmonary manifestations of anti-ARS antibody positive interstitial pneumonia- With or without PM/DM. *Respir Med* 2013;107:128–133.
 35. Tillie-Leblond I, Wislez M, Valeyre D, Crestani B, Rabbat A, Israel-Biet D, et al. Interstitial lung disease and anti-Jo-1 antibodies: Difference between acute and gradual onset. *Thorax* 2008;63:53–59.
 36. Gasparotto M, Gatto M, Saccon F, Ghirardello A, Iaccarino L, Doria A. Pulmonary involvement in antisynthetase syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 2019;31:603–610.
 37. Imbert-Masseau A, Hamidou M, Agard C, Grolleau JY, Chérin P. Antisynthetase syndrome. *Joint Bone Spine*. 2003 Jun;70(3):161-8.

38. Mii S, Kobayashi R, Nakano T, Harada H, Okada M, Matsui Y, et al. A histopathologic study of mechanic's hands associated with dermatomyositis: A report of five cases. *Int J Dermatol* 2009;48:1177–1182.
39. Sibia J, Cribier B. Mechanics hands in patients with antisynthetase syndrome : 25 cases. *Ann Dermatol Venereol* 2019;146:19–25.
40. Solomon J, Swigris JJ, Brown KK. Myositis-related interstitial lung disease and antisynthetase syndrome. *J Bras Pneumol* 2011;37:100–109.
41. Cavagna L, Nuño L, Scirè CA, Govoni M, Longo FJL, Franceschini F, et al. Serum Jo-1 Autoantibody and Isolated Arthritis in the antisynthetase syndrome: review of the literature and report of the experience of AENEAS Collaborative Group. *Clin Rev Allergy Immunol* 2017;52:71–80.
42. Sang GP, Hye JK, You HM, Choi EC, Young KS, Park BJ, et al. Human lysyl-tRNA synthetase is secreted to trigger proinflammatory response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:6356–6361.
43. Stone KB, Oddis C V., Fertig N, Katsumata Y, Lucas M, Vogt M, et al. Anti-Jo-1 antibody levels correlate with disease activity in idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Rheum* 2007;56:3125–3131.
44. Sato S, Kuwana M, Hirakata M. Clinical characteristics of Japanese patients with anti-OJ (anti-isoleucyl-tRNA synthetase) autoantibodies. *Rheumatology* 2007;46:842–845.
45. Labirua-Iturburu A, Selva-O'Callaghan A, Vincze M, Dankó K, Vencovsky J, Fisher B, et al. Anti-PL-7 (Anti-Threonyl-tRNA synthetase) Antisynthetase syndrome: Clinical manifestations in a series of patients from a european multicenter study (EUMYONET) and review of the literature. *Med (United States)* 2012;91:206–211.
46. Pinal-Fernandez I, Casal-Dominguez M, Huapaya JA, Albayda J, Paik JJ, Johnson C, et al. A longitudinal cohort study of the anti-synthetase syndrome: Increased severity of interstitial lung disease in black patients and patients with anti-PL7 and anti-PL12 autoantibodies. *Rheumatol (United Kingdom)* 2017;56:999–1007.
47. Hervier B, Benveniste O. Clinical heterogeneity and outcomes of antisynthetase syndrome. *Curr Rheumatol Rep* 2013;15.
48. Eloranta ML, Helmers SB, Ulfgren AK, Rönnblom L, Alm G V., Lundberg IE. A possible mechanism for endogenous activation of the type I interferon system in

- myositis patients with anti-Jo-1 or anti-Ro 52/anti-Ro 60 autoantibodies. *Arthritis Rheum* 2007;56:3112–3124.
49. Kryštůfková O, Vallerskog T, Barbasso Helmers S, Mann H, Půtová I, Běláček J, et al. Increased serum levels of B cell activating factor (BAFF) in subsets of patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Ann Rheum Dis* 2009;68:836–843.
 50. Tournadre A, Miossec P. Interleukin-17 in inflammatory myopathies. *Curr Rheumatol Rep* 2012;14:252–256.
 51. Roșu A, Mărgăritescu C, Stepan A, Mușetescu A, Ene M. IL-17 patterns in synovium, serum and synovial fluid from treatment-naïve, early rheumatoid arthritis patients. *Rom J Morphol Embryol* 2012;53:73–80.
 52. Iwakura y, Ishigame h, Saijo s, Nakae s. functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity* 2011;34:149–162.
 53. Monin L, Gaffen SL. Interleukin 17 family cytokines: Signaling mechanisms, biological activities, and therapeutic implications. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2018;10:1–18.
 54. Mitsdoerffer M, Lee Y, Jäger A, Kim HJ, Korn T, Kolls JK, et al. Proinflammatory T helper type 17 cells are effective B-cell helpers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:14292–14297.
 55. Reed AM, Crowson CS, Hein M, Padilla CL De, Olazagasti JM, Aggarwal R, et al. Biologic predictors of clinical improvement in rituximab-treated refractory myositis Clinical rheumatology and osteoporosis. *BMC Musculoskelet Disord* 2015;16:1–8.
 56. Veerdonk FL Van De, Lauwerys B, Marijnissen RJ, Timmermans K, Padova F Di, Koenders MI, et al. The anti-CD20 antibody rituximab reduces the Th17 cell response. *Arthritis Rheum* 2011;63:1507–1516.
 57. Alunno A, Carubbi F, Bistoni O, Caterbi S, Bartoloni E, Benedetto P Di, et al. Interleukin (IL)-17-producing pathogenic T lymphocytes co-express CD20 and are depleted by rituximab in primary Sjögren’s syndrome: A pilot study. *Clin Exp Immunol* 2016;184:284–292.
 58. Tabarkiewicz J, Pogoda K, Karczmarczyk A, Pozarowski P, Giannopoulos K. The role of IL-17 and Th17 lymphocytes in autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2015;63:435–449.
 59. Chen XQ, Yu YC, Deng HH, Sun JZ, Dai Z, Wu YW, et al. Plasma IL-17A is

- increased in new-onset SLE patients and associated with disease activity. *J Clin Immunol* 2010;30:221–225.
60. Zhang LW, Zhou PR, Wei P, Cong X, Wu LL, Hua H. Expression of interleukin-17 in primary Sjögren's syndrome and the correlation with disease severity: A systematic review and meta-analysis. *Scand J Immunol* 2018;87:1–14.
 61. Silva MG, Oba-Shinjo SM, Marie SKN, Shinjo SK. Serum interleukin-17A level is associated with disease activity of adult patients with dermatomyositis and polymyositis. *Clin Exp Rheumatol* 2018;656–662.
 62. Notarnicola A, Lapadula G, Natuzzi D, Lundberg IE, Iannone F. Correlation between serum levels of IL-15 and IL-17 in patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Scand J Rheumatol* 2015;44:224–228.
 63. Shen H, Xia L, Lu J, Xiao W. Interleukin-17 and interleukin-23 in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Scand J Rheumatol* 2011;40:217–220.
 64. Moran EM, Mastaglia FL. The role of interleukin-17 in immune-mediated inflammatory myopathies and possible therapeutic implications. *Neuromuscul Disord* 2014;24:943–952.
 65. Behrens Pinto GL, Carboni RC de S, Souza FHC de, Shinjo SK. A prospective cross-sectional study of serum IL-17A in antisynthetase syndrome. *Clin Rheumatol* 2020;39:2763-2771.
 66. Rider LG, Aggarwal R, Pistorio A, Bayat N, Erman B, Feldman BM, et al. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism criteria for minimal, moderate, and major clinical response in juvenile dermatomyositis: An International Myositis Assessment and Clinical Studies Group/Paediatric Rheumatology Inter. *Ann Rheum Dis* 2017;76:782–791.
 67. Aggarwal R, Rider LG, Ruperto N, et al. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism criteria for minimal, moderate, and major clinical response in adult dermatomyositis and polymyositis: An International Myositis Assessment and Clinical Studies Group/Paediatric Rheumatology International Trials Organisation Collaborative Initiative. *Ann Rheum Dis*. 2017;76:792-801.
 68. Bruce B, Fries JF. The Stanford Health Assessment Questionnaire: Dimensions and practical applications. *Health Qual Life Outcomes* 2003;1:1–6.
 69. Miller FW. Proposed preliminary core set measures for disease outcome assessment in adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies.

- Rheumatology* 2001;40:1262–1273.
70. Pina Cruellas MG, Trindade Viana V dos S, Levy-Neto M, Carlos de Souza FH, Shinjo SK. Myositis-specific and myositis-associated autoantibody profiles and their clinical associations in a large series of patients with polymyositis and dermatomyositis. *Clinics* 2013;68:909–914.
 71. de Souza FHC, de Araújo DB, Vilela VS, Bezerra MC, Simões RS, Bernardo WM, Miossi R, da Cunha BM, Shinjo SK. Guidelines of the Brazilian Society of Rheumatology for the treatment of systemic autoimmune myopathies. *Adv Rheumatol*. 2019 Jan 22;59:6.
 72. Dugar M, Cox S, Limaye V, Blumbergs P, Roberts-Thomson PJ. Clinical heterogeneity and prognostic features of South Australian patients with anti-synthetase autoantibodies. *Intern Med J* 2011;41:674–679.
 73. Shi J, Li S, Yang H, Zhang Y, Peng Q, Lu X, et al. Clinical profiles and prognosis of patients with distinct antisynthetase autoantibodies. *J Rheumatol* 2017;44:1051–1057.
 74. Chevrel G, Page G, Granet C, Streichenberger N, Varennes A, Miossec P. Interleukin-17 increases the effects of IL-1 β on muscle cells: Arguments for the role of T cells in the pathogenesis of myositis. *J Neuroimmunol* 2003;137:125–133.
 75. Mahler M, Miller FW, Fritzler MJ. Idiopathic inflammatory myopathies and the anti-synthetase syndrome: A comprehensive review. *Autoimmun Rev* 2014;13:367–371.
 76. Sem M, Molber Ø, Lund MB, Gran JT. Rituximab treatment of the anti-synthetase syndrome - A retrospective case series. *Rheumatology* 2009;48:968–971.
 77. Allenbach Y, Guiguet M, Rigolet A, Marie I, Hachulla E, Drouot L, et al. Efficacy of rituximab in refractory inflammatory myopathies associated with anti-synthetase auto-antibodies: An open-label, phase II trial. *PLoS One* 2015;10:40–47.
 78. Fasano S, Gordon P, Hajji R, Loyo E, Isenberg DA. Rituximab in the treatment of inflammatory myopathies: a review. *Rheumatology (Oxford)*. 2017 Jan;56(1):26-36.
 79. de Souza FHC, Miossi R, de Moraes JCB, Bonfá E, Shinjo SK. Favorable rituximab response in patients with refractory idiopathic inflammatory

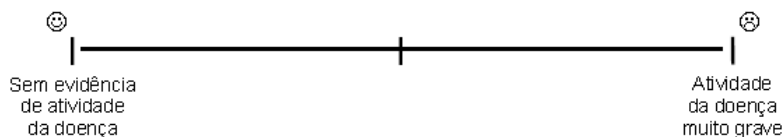
- myopathies. *Adv Rheumatol*. 2018 Sep 18;58(1):31
80. Vigna-Perez M, Hernández-Castro B, Paredes-Saharopulos O, Portales-Pérez D, Baranda L, Abud-Mendoza C, et al. Clinical and immunological effects of Rituximab in patients with lupus nephritis refractory to conventional therapy: A pilot study. *Arthritis Res Ther* 2006;8:1–9.
 81. Leandro MJ, Cambridge G, Ehrenstein MR, Edwards JCW. Reconstitution of peripheral blood B cells after depletion with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006;54:613–620.
 82. Tokunaga M, Fujii K, Saito K, Nakayamada S, Tsujimura S, Nawata M, et al. Down-regulation of CD40 and CD80 on B cells in patients with life-threatening systemic lupus erythematosus after successful treatment with rituximab. *Rheumatology* 2005;44:176–182.

9. Anexos

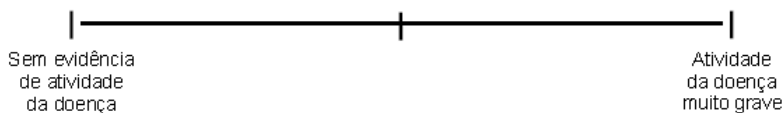
9.1 Questionários de atividade de doença

EVA

Escala Visual Analógica (Paciente):



Escala Visual Analógica (Médico):



MMT (lado direito, 0-10)

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

MITAX / MYOACT (Nas últimas 4 semanas; características atribuídas à miopatia)**(0=ausente; 1=melhorou; 2=igual; 3=piorou; 4=nova; NA=não aplicável)**

1. Febre (>38°C)	0	1	2	3	4	NA
2. Emagrecimento (>5%)	0	1	2	3	4	NA
3. Fadiga, cansado, letargia	0	1	2	3	4	NA
4. Linfadenopatia (>1 cm)	0	1	2	3	4	NA
5. Ulceração cutânea	0	1	2	3	4	NA
6. Eritrodermia	0	1	2	3	4	NA
7. Rash eritematosa (acompanhada de mudanças vesiculobolhosas, erosões ou necroses)	0	1	2	3	4	NA
8. Rash eritematosa (sem alterações secundárias)	0	1	2	3	4	NA
9. Paniculite						
a. >10% da área da superfície corpórea	0	1	2	3	4	NA
b. <10% da área da superfície corpórea	0	1	2	3	4	NA
10. Heliótropo	0	1	2	3	4	NA
11. Pápula/sinal de Gottron	0	1	2	3	4	NA
12. Alteração capilar periungueal	0	1	2	3	4	NA
13. Alopecia						
a. grave ou difusa	0	1	2	3	4	NA
b. leve ou local	0	1	2	3	4	NA
14. Mãos mecânicas	0	1	2	3	4	NA
15. Alterações vasculares (livedo reticular ou telangiectasias)	0	1	2	3	4	NA
15. Alterações vasculares (lesões vasculíticas)	0	1	2	3	4	NA
16. Artrite						
a. poliartrite grave com perda importante das funções	0	1	2	3	4	NA
b. artrite com perda moderada das funções	0	1	2	3	4	NA
c. artrite com nenhuma ou perda leve das funções	0	1	2	3	4	NA
17. Artralgia	0	1	2	3	4	NA
18. Crise abdominal importante (requerendo cirurgia ou UTI)	0	1	2	3	4	NA
19. Ulceração gastrointestinal	0	1	2	3	4	NA
20. Disfagia						
a. grave ou moderada	0	1	2	3	4	NA
b. leve	0	1	2	3	4	NA
21. Dor abdominal						
a. grave	0	1	2	3	4	NA
b. moderada	0	1	2	3	4	NA
c. leve	0	1	2	3	4	NA
22. Alterações ventilatórias (devido a fraqueza da muscular torácica)						
a. dispnéia ao repouso	0	1	2	3	4	NA
b. dispnéia ao esforço	0	1	2	3	4	NA
23. Diminuição da função pulmonar (devido a doença pulmonar intersticial)						
a. Dco ou Capacidade vital <50% do predito	0	1	2	3	4	NA
b. Dco ou Capacidade vital 50~65% do predito	0	1	2	3	4	NA
c. Dco ou Capacidade vital 66~80% do predito	0	1	2	3	4	NA
24. Pneumotórax, pneumomediastino	0	1	2	3	4	NA
25. Distonia						
a. grave ou moderada	0	1	2	3	4	NA
b. leve	0	1	2	3	4	NA
26. Miocardite ou pericardite						
a. sintomática ou com alteração ao exame físico	0	1	2	3	4	NA
b. sem alteração ao exame físico	0	1	2	3	4	NA
27. Aritmia						
a. grave	0	1	2	3	4	NA
b. outras arritmias, exceto taquicardia sinusal	0	1	2	3	4	NA
28. Taquicardia sinusal	0	1	2	3	4	NA
29. Miosite						
a. perda funcional importante	0	1	2	3	4	NA
b. perda funcional moderada	0	1	2	3	4	NA
c. perda funcional leve	0	1	2	3	4	NA
30. Mialgia	0	1	2	3	4	NA
31. ATIMDADE DA DOENÇA: CONSTITUCIONAL	0					10
32. ATIMDADE DA DOENÇA: ESQUELÉTICA	0					10
33. ATIMDADE DA DOENÇA: GASTROINTESTINAL	0					10
34. ATIMDADE DA DOENÇA: PULMONAR	0					10
35. ATIMDADE DA DOENÇA: CARDIOVASCULAR	0					10
36. ATIMDADE DA DOENÇA: OUTRAS	0					10
37. AVALIAÇÃO GLOBAL EXTRA-MUSCULAR:	0					10
38. ATIMDADE DA DOENÇA: MUSCULAR	0					10
39. ATIMDADE DA DOENÇA: GLOBAL	0					10
40. ATIMDADE DA DOENÇA: PELE	0					10

HAQ**Capacidade habitual DURANTE A SEMANA PASSADA**

	Sem QUALQUER dificuldade	Com ALGUMA dificuldade	Com MUITA dificuldade	Incapaz de fazer
1 VESTIR-SE E ARRUMAR-SE				
- Vestir-se, inclusive amarrar os cordões dos sapatos e abotoar suas roupas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. LEVANTAR-SE				
- Lavar sua cabeça e seus cabelos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Levantar-se de maneira ereta de uma cadeira de encosta reto e sem braços?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Deitar-se e levantar-se da cama?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 COMER				
- Cortar um pedaço de carne?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Levar a boca um copo ou uma xícara cheio de café, leite ou água?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Abrir um saco de leite comum?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4 ANDAR				
- Caminhar em lugares planos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Subir cinco degraus?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5 HIGIENE PESSOAL				
- Lavar e secar seu corpo após o banho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Tomar banho de chuveiro?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Sentar-se e levantar-se de um vaso sanitário?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6 ALCANÇAR COISAS				
- Levantar os braços e pegar um objeto de aproximadamente 2,5kg que está posicionado pouco acima da cabeça?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Curvar-se para pegar suas roupas no chão?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7 AGARRAR				
- Segurar-se em pé no ônibus ou metro?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Abrir potes ou vidros de conservas que tenham sido previamente abertos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Abrir e fechar torneiras?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8 ATIVIDADES				
- Fazer compras nas redondezas onde mora?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Entrar em e sair de um ônibus?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Realizar tarefas tais como usar a vassoura para varrer e rodo para água?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

9.2 Artigo publicado

Clinical Rheumatology
<https://doi.org/10.1007/s10067-020-05013-7>

ORIGINAL ARTICLE



A prospective cross-sectional study of serum IL-17A in antisynthetase syndrome

Gustavo Luiz Behrens Pinto¹ · Renata Casseb de Souza Carboni¹ · Fernando Henrique Carlos de Souza¹ · Samuel Katsuyuki Shinjo¹

Received: 15 January 2020 / Revised: 20 February 2020 / Accepted: 28 February 2020
© International League of Associations for Rheumatology (ILAR) 2020

Abstract

Objectives The pro-inflammatory interleukin (IL)-17A serum has been characterized in several systemic autoimmune diseases, but not in antisynthetase syndrome (ASS). Therefore, the present study aims firstly to assess the serum level of the IL-17A in patients with ASS, comparing with healthy individuals, and secondly to analyze prospectively this IL in patients with refractory ASS undergoing rituximab treatment.

Materials and methods A cross-sectional, single-center study that included 64 patients with ASS who were age-, gender-, and ethnicity-matched to 64 healthy individuals. Disease status was measured by the International Myositis Assessment and Clinical Studies Group (IMACS) set scores. Secondly, the patients with refractory disease treated with rituximab were prospectively followed for 12 months. The IL-17A was assessed by the ELISA method.

Results The mean age of the patients was 44.8 ± 11.8 years, with a predominance of female gender and Caucasian. The median serum IL-17A level was higher in ASS patients compared with healthy individuals: 9.7 (9.1–10.4) vs. 7.7 (5.7–9.0) pg/mL, respectively, and $P < 0.001$. However, the demographical, clinical, and laboratory data indicates that disease status did not correlate with serum levels of the IL-17A in ASS patients. Prospectively, 16 patients received rituximab, and there was a drop of IL-17A serum level over the first year of treatment in these patients: from 9.7 (9.1–10.6) to 9.0 (8.2–9.7) pg/mL ($P = 0.01$).

Conclusions Our study demonstrated that patients with ASS have increased serum levels of the IL-17A compared with healthy controls. In addition, the patients with refractory ASS treated with rituximab showed a reduction of the serum levels of the IL-17A.

Key Points

- Patients with ASS have increased serum levels of the IL-17A.
- Patients with refractory ASS treated with rituximab showed a reduction of the serum levels of the IL-17A.

Keywords Antisynthetase syndrome · Cytokine · Inflammatory myopathies · Interleukin · Myositis