

**ISABELA BRUNA PIRES BORGES**

**Impacto de atorvastatina nos tecidos musculares de pacientes  
com dermatomiosite e síndrome antissintetase**

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

Programa de Ciências do Sistema  
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo

**SÃO PAULO**

**2023**

**ISABELA BRUNA PIRES BORGES**

**Impacto de atorvastatina nos tecidos musculares de pacientes  
com dermatomiosite e síndrome antissintetase**

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

Programa de Ciências do Sistema  
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo

**SÃO PAULO**

**2023**

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

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

©reprodução autorizada pelo autor

Borges, Isabela Bruna Pires  
Impacto de atorvastatina nos tecidos musculares  
de pacientes com dermatomiosite e síndrome  
antissintetase / Isabela Bruna Pires Borges. --  
São Paulo, 2023.

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

Programa de Ciências do Sistema  
Musculoesquelético.

Orientador: Samuel Katsuyuki Shinjo.

Descritores: 1.Dermatomiosite 2.Estatinas  
3.Genes 4.Miosites 5.Síndrome antissintetase  
6.Análise da expressão gênica de célula única

USP/FM/DBD-347/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

**Nome:** Isabela Bruna Pires Borges

**Título:** Impacto de atorvastatina nos tecidos musculares de pacientes com dermatomiosite e síndrome antissintetase

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

**Aprovado em:**

**Banca Examinadora**

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

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

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

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

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

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

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

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

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus, que nunca me abandonou e sempre me deu forças para superar todas as dificuldades.

A minha mãe, Maria Izabel Pires de Almeida, que é minha maior incentivadora, que nunca duvidou da minha capacidade e sempre sonhou comigo.

A minha avó Maria Aparecida Pires de Almeida (*in memoriam*), que infelizmente nos deixou antes de presenciar esse momento tão importante.

Aos meus sobrinhos e afilhados de coração Daniel Pires Dellaretti, Alice Pires Dellaretti e Caleb Pires Dellaretti que são luz na minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo pelo acolhimento e oportunidade de realização da iniciação científica, mestrado e doutorado, pela confiança e todo o aprendizado ao longo desse tempo que passamos juntos.

À Dra. Sueli Mieko Oba-Shinjo Shinjo pela confiança, pela paciência e por todos os ensinamentos. Foram anos de muito aprendizado e crescimento ao lado dela.

A Profa. Dra. Suely Kazue Nagahashi Marie e ao Dr. Antonio Marcondes Lerario pelas análises de bioinformática realizadas.

Agradeço ao Dr. Fernando Henrique Carlos de Souza pelo acompanhamento desde a iniciação científica, pelas participações nas bancas de mestrado e na qualificação na banca de doutorado, sempre com críticas construtivas que contribuem para o crescimento acadêmico, pessoal e profissional. Agradeço também aos professores Dr. Luiz Augusto Buoro Perandini e a Dra. Maria Elizabeth Rossi da Silva pela participação na banca de qualificação e pelas valiosas contribuições.

À Profa. Dra. Eloisa Bonfá e à Profa. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira (*in memoriam*) pela confiança e por abrirem as portas da disciplina.

À Virgínia Lucia Nazario Bonoldi por todo o conhecimento proporcionado, por ter me acolhido quando eu cheguei e era iniciante nesse mundo de bancada e pesquisa. À professora Dra. Walcy Paganelli Rosolia Teodoro, sempre muito solícita e disposta a ajudar.

Agradeço a Maria Aurora Gomes da Silva por ser minha companheira de laboratório e da vida. Ela me acolheu e, sempre está comigo. Me ensinou a ver a vida tanto acadêmica, profissional e pessoal de uma forma diferente, sempre me fortalecendo com palavras nos momentos certos, me apoiando e me ajudando sempre a levantar.

À Maria de Fátima de Almeida que é uma amiga incrível, sempre bem-humorada e me ensinou a levar a vida com mais leveza e alegria.

Aos companheiros do laboratório pelo auxílio na condução deste projeto e parceria nos projetos realizados em equipe. Pelo apoio, amizade e parceria ao longo dos anos.

Agradeço a equipe da Reumatologia e do Instituto de ortopedia, as secretárias e as técnicas, sempre atenciosas e dispostas a ajudar.

Aos pacientes que se disponibilizaram a participar do estudo, mesmo com todas as dificuldades estavam presentes quando convocados e nos tratando com tanto carinho.

Ao Programa de Apoio a Pós-Graduação (PROAP) pelos auxílios para participação em congressos.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de doutorado (FAPESP #2019/11367-9) e pelo financiamento da pesquisa.

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

# SUMÁRIO

	Pág.
<b>Lista de Abreviaturas e Siglas.....</b>	<b>IX</b>
<b>Lista de Figuras.....</b>	<b>X</b>
<b>Lista de Tabelas.....</b>	<b>XI</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>XII</b>
<b><i>Abstract</i>.....</b>	<b>XIV</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1. Miopatias autoimunes sistêmicas.....	2
1.2. Síndrome metabólica.....	4
1.3. Hipolipemiantes em miopatias autoimunes sistêmicas.....	5
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>9</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>11</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>16</b>
4.1. Caracterização da amostra.....	17
4.2. Análise da expressão gênica.....	19
4.3. Análise histológica e histoquímica.....	28
4.4. Análise histoquímicas e do MHC I.....	31
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>36</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>38</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>48</b>
8.1. Anexo 1.....	49
8.2. Anexo 2.....	52



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
DM	Dermatomiosite
EULAR	<i>European League Against Rheumatism</i>
EVA	Escala visual analógica
HAQ	<i>Health assessment questionnaire</i>
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HMGCR	3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductase
HOMA	<i>Homeostatic model assessment</i>
IFN I	Interferon tipo I
IMACS	<i>International Myositis Assessment &amp; Clinical Studies Group</i>
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MAS	Miopatias autoimunes sistêmicas
MCI	Miosite por corpos de inclusão
MHC	Complexo de histocompatibilidade principal
MMT	<i>Muscle manual testing</i>
MNIM	Miopatia necrosante imunomediada
MYOACT	<i>Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Score</i>
PM	Polimiosite
SAS	Síndrome antissintetase
SM	Síndrome metabólica
SRP	<i>Signal recognition particle</i>

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Subdivisão das miopatias autoimunes sistêmicas.....	4
<b>Figura 2.</b> Pacientes participantes do estudo.....	12
<b>Figura 3.</b> Expressão gênica nas vias mitocondrial e fosforilação oxidativa pré e pós-intervenção com atorvastatina ou placebo em biópsias dos pacientes com dermatomiosite. ....	20
<b>Figura 4.</b> Expressão gênica nas vias mitocondrial e fosforilação oxidativa pré e pós-intervenção com atorvastatina ou placebo em biópsias dos pacientes com dermatomiosite. ....	22
<b>Figura 5.</b> Expressão gênica nas vias mitocondrial e fosforilação oxidativa pré e pós-intervenção com atorvastatina ou placebo em biópsias dos pacientes com síndrome antissintetase.....	24
<b>Figura 6.</b> Expressão gênica nas vias lipídica, insulínica e de fibrogênese pré e pós-intervenção com atorvastatina ou placebo em biópsias dos pacientes com síndrome antissintetase.....	26
<b>Figura 7.</b> Análise histológica em pacientes com dermatomiosite .....	28
<b>Figura 8.</b> Análise histológica em pacientes com dermatomiosite .....	29
<b>Figura 9.</b> Análise histológica em pacientes com síndrome antissintetase .....	30
<b>Figura 10.</b> Análise histológica em pacientes com síndrome antissintetase .....	30

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Características gerais, laboratoriais, <i>status</i> da doença, medicamentosa dos pacientes com dermatomiosite e síndrome antissintetase pré- e pós-intervenção medicamentosa .....	18
------------------	---	----

## RESUMO

Borges IBP. Impacto de atorvastatina nos tecidos musculares de pacientes com dermatomiosite e síndrome antissintetase [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

**Introdução:** Estudos recentes têm mostrado que o uso de estatinas é seguro do ponto de vista clínico e laboratorial em pacientes com dislipidemia e com miopatias autoimunes sistêmicas (por exemplo: dermatomiosite - DM, e síndrome antissintetase - SAS). Entretanto, não sabemos o eventual impacto das estatinas nos tecidos musculares desses pacientes, assim como da expressão de genes envolvidos nas vias mitocondrial, oxidativa, insulínica, lipídica e de fibrogênese nesses tecidos musculares, o que nos motivou a realizar o presente estudo.

**Métodos:** Trata-se do complemento de um estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego e placebo-controlado, no qual foram analisadas amostras de tecidos musculares de pacientes com dislipidemia e com DM ou SAS: seis pacientes com DM e cinco com SAS receberam atorvastatina (20mg/dia) e dois pacientes com DM e três com SAS receberam placebo (grupo controle) por um período de 12 semanas. A análise do transcriptoma (RNA-seq) foi realizada em amostras do músculo vasto lateral, obtidas no início e após 12 semanas de intervenção medicamentosa de todos os pacientes. Os resultados foram analisados considerando-se uma alteração de expressão (aumento ou diminuição) após tratamento (atorvastatina ou placebo) comparada com controle pré-intervenção entre 0,4 e -0,4 (na escala  $\log_2$ ) e com valor de  $P < 0,05$ . Nas análises histológicas e histoquímicas foram realizados cortes transversais de tecidos musculares congelados e utilizadas colorações específicas para avaliação de características morfológicas e funcionais das fibras musculares, presença de infiltrado inflamatório, fibrose intersticial e conteúdos lipídicos. A análise de *major histocompatibility complex* (MHC) I foi realizada por imuno-histoquímica. **Resultados:** A média de idade dos pacientes foi de 46,1 e 47,5 anos em DM e SAS, respectivamente, sendo a maioria do sexo feminino. Todos os pacientes estavam estáveis de acordo com os escores de *International Myositis Assessment & Clinical Studies Group* (IMACS). Em ambos os grupos (atorvastatina e placebo) não houve alterações significativas

de genes relacionados às vias analisadas. Do ponto de vista histológico, foi observada leve variabilidade do tamanho das fibras que foi preservada após a intervenção. Além disso, houve a preservação do mosaico das fibras musculares dos tipos I e II, da arquitetura interna das fibras e das regiões endomisial, perimisial e perivascular. Não foram observadas necrose ou atrofia das fibras, falhas focais ou acúmulo subsarcolemais, lipídico, áreas de fibrose, alterações de atividades mitocondriais. Todas as fibras musculares apresentavam marcação para MHC I.

**Conclusões:** A atorvastatina não promoveu alterações da expressão de genes relacionados às vias mitocondriais, oxidativas, insulínica, lipídica e de fibrogênese de tecidos musculares de pacientes com DM e SAS. Além disso, o uso de atorvastatina não promoveu alterações histológicas e histoquímicas dos tecidos musculares.

**Palavras-chave:** Dermatomiosite. Estatinas. Genes. Miosites. Síndrome antissintetase. Análise da expressão gênica de célula única.

## ABSTRACT

Borges IBP. Impact of atorvastatin in muscle tissues of patients with dermatomyositis and antisynthetase syndrome [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2023.

**Introduction:** Recent studies have shown that statins are safe from clinical and laboratory points of view in patients with dyslipidemia and systemic autoimmune myopathies (e.g., such as dermatomyositis - DM, and antisynthetase syndrome - ASS). However, we do not know the possible impact of statins on the muscle tissues of these patients, and the gene expression of mitochondrial, oxidative, insulin, lipid, and fibrogenic pathways in these muscle tissues, which motivated us to conduct the present study. **Methods:** This is the complement of a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study, in which muscle tissue samples from patients with dyslipidemia and patients with DM or ASS were analyzed: six patients with DM and five with ASS received atorvastatin (20 mg/day) and two patients with DM and three with ASS received placebo (control group) for a period of 12 weeks. Transcriptome analysis (RNA-seq) was performed on vastus lateralis muscle samples obtained at baseline and after 12 weeks of drug intervention in all patients. The results were analyzed considering an expression change (over- or under-expressed) after treatment (atorvastatin or placebo) compared with pre-intervention control between 0.4 and -0.4 (on the log<sub>2</sub> scale) and with a *P* value < 0.05. In the histological and histochemical analyses, cross-sections of frozen muscle tissues were performed, and specific stains were used to evaluate the morphological and functional characteristics of muscle fibers, presence of inflammatory infiltrates, interstitial fibrosis, and lipid content. The major histocompatibility complex (MHC) I analysis was performed using immunohistochemistry. **Results:** The mean age of the patients was 46.1 and 47.5 years, respectively, with the majority being female. All patients were stable according to International Myositis Assessment and Clinical Studies Group (IMACS) scores. In both groups (atorvastatin and placebo), there were no significant changes in genes related to the mitochondrial, oxidative, insulin, lipid, and fibrogenic pathways. From a histological point of view, there was a slight variability in the fiber size that was preserved after the intervention. In addition, the

mosaic of muscle fibers of types I and II was preserved in the internal architecture of the fibers and endomysial, perimysial, and perivascular regions. No fiber necrosis or atrophy, focal failures, subsarcolemmal accumulation, lipids, areas of fibrosis, or alterations in mitochondrial activity were observed. All muscle fibers were labeled for MHC I. **Conclusions:** Atorvastatin did not promote changes in the expression of genes related to mitochondrial, oxidative, insulin, lipid, and fibrogenesis pathways in muscle tissues of patients with DM and ASS. In addition, atorvastatin did not promote histological and histochemical changes in muscle tissues.

**Keywords:** Dermatomyositis. Statins. Genes. Myositis. Antisynthetase syndrome. Transcriptome analysis. Single-cell gene expression analysis..

# **1. INTRODUÇÃO**



## 1.1 Miopatias autoimunes sistêmicas

As miopatias autoimunes sistêmicas (MAS) pertencem a um grupo heterogêneo de doenças autoimunes sistêmicas, crônicas, associadas à alta morbidade e à incapacidade funcional (1-3). Considerando-se as características demográficas, clínicas, laboratoriais, histopatológicas e evolutivas, as MAS podem ser classificadas em dermatomiosite (DM), polimiosite (PM), síndrome antissintetase (SAS), miosite por corpos de inclusão, miopatia necrosante imunomediada (MNIM), entre outras (2,4).

A incidência anual de MAS é de aproximadamente 0,5 a 8,4 casos por milhão de habitantes, com acometimento predominantemente em indivíduos do sexo feminino (2 - 3 mulheres para 1 homem) e na faixa etária de 45 a 55 anos (5,6).

Em relação à fisiopatogênese, há envolvimento tanto da imunidade celular, quanto da imunidade humoral nas MAS. Em DM, há um papel relevante dos linfócitos B, com a presença de autoanticorpos, deposição de imunocomplexos em junção dermoepiderme das lesões cutâneas, e a presença destes linfócitos B em músculos inflamados (7) e áreas perivasculares (8,9). Adicionalmente, há evidências da ativação do sistema complemento, levando ao depósito do complexo de ataque de membrana (C5b-9) nos capilares endomisiais, resultando na redução da densidade capilar, inflamação perivascular, isquemia muscular, necrose e atrofia das fibras musculares esqueléticas (10-12). Além disto, na vigência de um processo inflamatório muscular persistente pode ocorrer um desbalanço do processo de reparação e de regeneração tissular, levando, em última análise, a uma maior área de fibrose do tecido conjuntivo muscular, comprometendo a funcionalidade muscular (13). As causas ainda não são bem definidas, mas acredita-se que sejam multifatoriais, com envolvimento de fatores genéticos, imunológicos e ambientais. Nos últimos anos, a via de interferon tipo 1 (IFN1) tem sido estudada como um dos principais potenciais participantes da patogênese de pacientes com DM (14). A hiperexpressão de genes induzíveis por IFN1 foi demonstrada em tecido muscular (14), em sangue periférico (15,16) e pele (17) destes pacientes. Além disso, o nível de expressão dos genes relacionados à via IFN1 se correlacionou com indicadores de atividade de doença em MAS (15-17).

Do ponto de vista clínico, a DM/PM é caracterizada pela presença de fraqueza muscular proximal progressiva e insidiosa dos membros, levando, em última análise, a uma incapacidade funcional caracterizada por sedentarismo ou até mesmo a restrição ao leito. No caso de DM, há ainda o envolvimento cutâneo, sendo as clássicas alterações denominadas de heliótropo e sinal/pápulas de Gottron. Além disto, a DM pode apresentar outras lesões secundárias, como a presença de erupções cutâneas, sinal do “V” do decote, sinal do “xale”, fotossensibilidade, calcinose, úlceras, vasculites, hipertrofia das cutículas, eritemas periungueais, entre outras (18).

A SAS, por sua vez, é um subgrupo de pacientes com MAS que apresenta, além do acometimento muscular, febre, fenômeno de Raynaud, “mãos de mecânico”, acometimento articular e pulmonar (19). Laboratorialmente, apresenta autoanticorpos miosite específicos, denominados anti-aminoacil-tRNA sintetase. (20-22).

Há indícios que a SAS tenha início nos tecidos pulmonares ou musculares. As células imunes ativadas juntamente com as células musculares que sofreram danos ou que estão em regeneração, podem liberar alguns tipos de anticorpos no meio extracelular. Esse dano celular e a inflamação podem ativar as células apresentadoras de antígeno, ocorrendo assim a incorporação e apresentação de peptídeos aminoacil-tRNA sintetase com MHC II, ativando um subconjunto de células T CD4+ específicas para aminoacil-tRNA sintetase. Quando ocorre esse processo, as células T podem auxiliar as células B específicas a proliferar e produzir autoanticorpos aminoacil-tRNA sintetase. Isso faz com que a formação subsequente de complexos imunológicos antígeno-anticorpo ative mais ainda o sistema imunológico, aumentando as condições inflamatórias crônicas (23,24).

Histologicamente, há estudos que mostram que pacientes com SAS e anti-Jo-1 positivo, apresentam infiltrados celulares, principalmente na região endomisial, com predomínio de macrófagos. Há presença de necrose difusa e expressão de MHC I. Marcação de células CD68+ e discreta presença de CD4+ e CD8+ (25).

Os critérios classificatórios para a definição das MAS são de *European League Against Rheumatism / American College of Rheumatology* (EULAR/ACR) 2017 (26) que tem como finalidade inicial avaliar a probabilidade de um paciente



(35,36). As doenças cardiovasculares, por sua vez, são um importante problema de saúde pública, constituindo a causa mais importante de morbidade e mortalidade na população em geral (37). Além da alta prevalência de SM, esses pacientes ainda apresentavam, em particular, nível sérico elevado de colesterol total, LDL-colesterol e triglicerídeos, além de nível sérico baixo de HDL-colesterol (28-31,38).

Corroborando com nossos achados, um estudo em pacientes com DM juvenil (39) também mostrou uma alta prevalência de dislipidemia. Esse conjunto de fatores, em particular a dislipidemia, em pacientes com MAS, juntamente com o uso crônico de glicocorticoides, presença de incapacidade funcional, tendência ao sedentarismo ou até mesmo a restrição ao leito em alguns casos, aumentam ainda mais o risco cardiovascular e mortalidade nesta população (28).

### **1.3 Hipolipemiantes e miopatias autoimunes sistêmicas**

Os hipolipemiantes são os medicamentos mais utilizados para o tratamento de dislipidemia e também para a prevenção de doenças cardiovasculares (40).

Dentre os hipolipemiantes, há a classe das estatinas, que são inibidores da enzima 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A redutase, fundamental na síntese hepática de colesterol, resultando em um aumento da regulação dos receptores de LDL, levando a uma diminuição dos níveis de LDL colesterol no sangue. Todas as estatinas compartilham uma estrutura similar que inibe a enzima (41). Entre os eventos adversos do uso de hipolipemiantes, o mais comum é quadro de mialgia, seguido de miosite, aumento de enzimas musculares e, menos comumente, rabdomiólise (42). Estes eventos são autolimitados e o tratamento se baseia na suspensão dos hipolipemiantes.

Embora extremamente raro, o uso destas medicações pode ainda desencadear a instalação de DM/PM (43-54) ou de miopatia necrosante imunomediada (55-57) em indivíduos sem história prévia de doenças autoimunes sistêmicas. Nestes casos, além da suspensão dessas medicações, é necessária a introdução de glicocorticoide e/ou de imunossupressores para o controle da atividade da doença. Nosso grupo realizou uma descrição completa de nove pacientes da nossa instituição que desenvolveram a DM/PM após uma exposição prévia a estatinas (54), contrastando com uma coletânea de 32 casos descritos na

literatura. Diferentemente dos casos já publicados, nossos pacientes, apesar de manifestarem clinicamente de uma forma agressiva, apresentaram boa evolução clínica e laboratorial, com longo período de remissão da doença (54).

Embora não haja nenhuma evidência científica, na prática clínica, evita-se o uso de hipolipemiantes nos pacientes com MAS com receio de recidivas e/ou reativação da doença. Diante disto, nosso grupo também foi pioneiro na avaliação retrospectiva de 30 pacientes consecutivos com MAS estáveis e dislipidemia, que foram expostos ao uso de algum hipolipemiante (58). Todos os pacientes apresentaram melhora significativa do perfil lipídico, sem recidiva ou ativação da doença. Para corroborar esses dados, realizamos também um ensaio clínico, prospectivo, randomizado, duplo cego, na qual os pacientes com MAS estáveis e dislipidêmicos foram submetidos a tratamento com atorvastatina cálcica 20 mg/dia ou placebo por 12 semanas. O uso da atorvastatina se mostrou seguro clínica e laboratorialmente, sem recidivas da atividade das doenças. Após 12 semanas de seguimento, os grupos atorvastatina e placebo foram comparáveis quanto aos parâmetros do *status* da doença, medicamentos utilizados, perfil glicêmico, insulínico, *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance* (HOMA), assim como os níveis de colesterol total e HDL-colesterol. Entretanto, houve uma redução significativa do nível de LDL-colesterol [mediana: 95,5 (79,3 - 134,5) mg/dL vs. 135,0 (123,0 - 174,6) mg/dL, respectivamente, grupos atorvastatina e placebo;  $P = 0,011$ ]. Adicionalmente, não houve nenhum relato de eventos adversos. Apesar desses resultados promissores do ponto de vista clínica e laboratorial, não sabemos o impacto da atorvastatina nas diferentes vias metabólicas (por exemplo, mitocondrial, oxidativa, lipídica, glicêmica, e de fibrogênese - expressão gênica) dos tecidos musculares de pacientes com MAS.

Indivíduos sem MAS, em tratamento com estatinas, podem cursar com sintomas musculares, tais como mialgias inespecíficas, miosite, elevação de enzimas musculares e, raramente, rabdomiólise (42,59). Os mecanismos responsáveis por esses efeitos musculares ainda não são bem entendidos, mas acredita-se que quando ocorre o bloqueio da via do colesterol, há uma diminuição dos níveis de colesterol intracelular, tornando a fibra mais instável. Isso acarreta em aumento de cálcio ionizado livre no plasma, ocasionando aumento de cálcio

mitocondrial, afetando sua integridade estrutural e funcional, o que pode causar deficiência da coenzima ubiquinona (Q10) (60).

A ubiquinona atua na mitocôndria como um carreador de elétrons na fosforilação oxidativa. Um déficit dessa molécula pode diminuir o aporte energético, prejudicando a funcionalidade e também desencadear eventos de apoptose e, por consequência ativar a sinalização via mitocondrial (60), embora essa associação da Q10 com a estatina e o dano muscular ainda não está bem estabelecida. As estatinas nas mitocôndrias também podem induzir a liberação de citocromo C, que pode ser responsável pela formação de apoptossomo, e como consequência, causar apoptose da célula (61).

Sirvent *et al.* realizaram um estudo onde mostra que essa homeostasia do cálcio, apesar de levar ao dano muscular, pode ser independente da função mitocondrial, uma vez que ele é o responsável pela ativação do citoesqueleto, e funciona como sinal elétrico para que ocorra sua própria liberação nos processos de contração muscular (62). Outra hipótese para o dano muscular é a expressão de atrogina-1, proteína envolvida na atrofia muscular (63). Um estudo realizado utilizando camundongos e embriões de zebra-peixe mostrou que as estatinas podem induzir a expressão de atrogina-1, além de aumentar a degradação de proteínas nas células musculares que foram tratadas com estatinas, ocorrendo também a supressão de sinalização do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF)-1, ocasionando a desfosforilação da *forkhead box* (FOX), o que explicaria a indução de atrogina-1.

Do ponto de vista metabólico, há evidências de que as estatinas aumentam a incidência de diabetes melito (64,65), enquanto os efeitos sobre a sensibilidade à insulina são discutíveis (66). A resistência à insulina está associada à disfunção mitocondrial (67). Entretanto, é possível que a hiperglicemia induzida pela estatina e o risco de diabetes podem ser mediados no nível mitocondrial. No estudo JUPITER foi realizado ensaio clínico, randomizado, duplo cego e avaliados 17603 homens e mulheres sem doença cardiovascular prévia ou diabetes melito (68). Esses pacientes foram tratados com rosuvastatina 20 mg/dia ou placebo e acompanhados por até 5 anos para avaliação de desfechos primários e secundários cardiovasculares e metabólicos. Foi mostrado que o risco de desenvolvimento de diabetes melito na terapia com estatinas parece limitado a

peessoas com predisposição à elevação dos níveis de glicemia em jejum, obesidade grave ou hemoglobina glicada elevada (HbA1c). Outro ensaio clínico, randomizado, duplo cego realizado com placebo e atorvastatina (10, 20, 40 e 80 mg/dia), envolvendo 213 pacientes com hipercolesterolemia, mostrou como desfecho primário que os níveis de HbA1c foi significativamente maior em pacientes que fizeram uso de atorvastatina. Isso foi acompanhado pelo aumento dos níveis de insulina em jejum, redução da sensibilidade à insulina e menores níveis de adiponectina. Como os níveis de HbA1c são um indicador sensível da glicemia, esses resultados sugerem que a atorvastatina pode causar intolerância à glicose em parte devido à diminuição da sensibilidade à insulina (69).

Em miopatias, acredita-se que alguns mecanismos não imunes possam interferir no desempenho das fibras musculares e causar enfraquecimento do músculo na ausência de infiltrado de células inflamatórias. Isso ocorre, pois, a hipóxia induzida pela perda capilar, pode levar a indução da expressão e liberação extracelular de *HMGB1* em células endoteliais e fibras musculares. A indução do *HMGB1*, pode induzir a expressão de moléculas de MHC I, o que pode ocasionar estresse do retículo endoplasmático, e ocasionar a expressão de  $\text{NF}\gamma\text{B}$ , permanecendo a inflamação. As moléculas de MHC I podem reduzir a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  do retículo endoplasmático, levando a fadiga muscular. Quando há acúmulo de proteínas anormais nas fibras musculares, pode induzir o estresse do retículo endoplasmático e/ou autofagia. Se não ocorrer a eliminação dessas proteínas em um período hábil, pode ocorrer apoptose muscular ou morte celular autofágica, o que contribui para a fadiga muscular (70). Os mecanismos na qual as estatinas afetam a expressão de MHC I, não são bem esclarecidas, porém acredita-se que as estatinas aumentam a expressão de MHC I induzida por  $\text{IFN}\gamma$  (71).

Essas hipóteses relacionadas à ação de estatinas nos tecidos musculares são baseadas em indivíduos com dislipidemia e sem doença autoimune sistêmica. No entanto, conforme mencionado previamente, não há evidências do seu efeito do ponto de vista molecular nos tecidos musculares de pacientes com MAS, o que nos motivou a realização do presente estudo.

## **2. OBJETIVOS**



**Objetivo primário**

Caracterização molecular das vias metabólicas (mitocondrial, insulínica, lipídica, oxidativa e de fibrogênese - expressão gênica) de tecidos musculares de pacientes com DM e SAS submetidos a atorvastatina ou placebo.

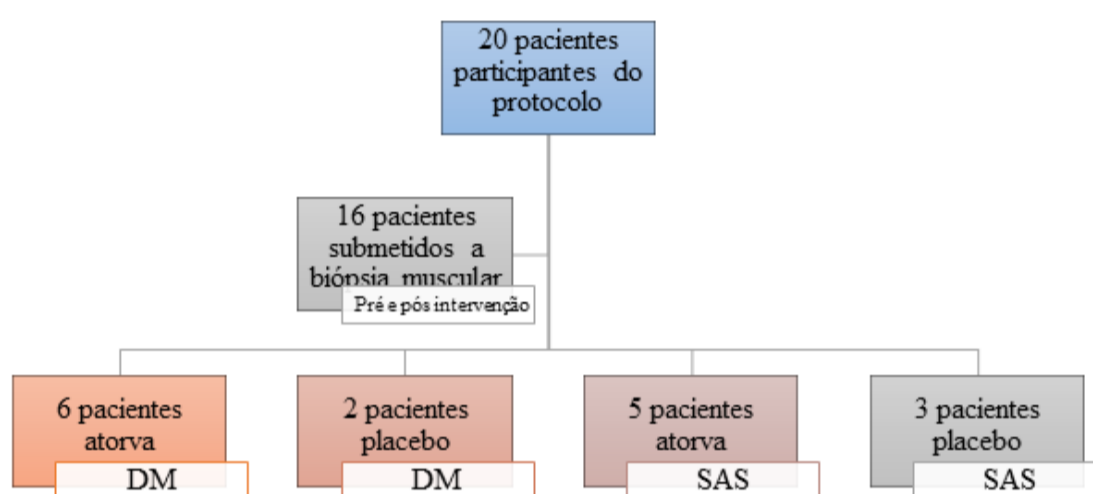
**Objetivos secundários**

Caracterização histológica e histoquímica dos tecidos musculares de pacientes com DM e SAS submetidos a atorvastatina ou placebo (morfologia celular, tipagem de fibras musculares, caracterização de lipídeos intra e intermusculares, atividade mitocondrial).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

**Desenho do estudo.** Trata-se da extensão de um estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego e placebo controlado (72), aprovado pelo comitê de ética local (CAAE 33558414.7.0000.0068), no qual os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Neste estudo, 16 dos 20 pacientes com dislipidemia e com DM ou SAS foram submetidos à biópsia muscular do vasto lateral antes e após 12 semanas de intervenção medicamentosa com atorvastatina 20 mg/dia ou placebo (**Figura 2**).

**Figura 2.** Pacientes participantes do estudo



DM: dermatomiosite; SAS: síndrome antissintetase.

A DM nesse estudo foi definida de acordo com os critérios classificatórios de *European League Against Rheumatism / American College of Rheumatology* (EULAR/ACR) 2017, enquanto que no caso de SAS, de acordo com a definição estabelecida por Behrens Pinto *et al.* (27).

**Dados.** Os pacientes elegíveis foram entrevistados e os prontuários revistos sistematicamente. Os seguintes dados foram colhidos: (a) demográficos: idade atual, etnia, sexo; (b) níveis séricos de enzimas musculares: creatinofosfoquinase (CPK), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e desidrogenase láctica (DHL); (c) terapia medicamentosa: uso de medicação remota e atual (incluindo glicocorticoides); (d) evolução clínica e status da doença (clínicolaboratorial): avaliada através da aplicação dos seguintes questionários e escores: *Manual Muscle Testing* (MMT)-8, *Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scales* (MYOACT), avaliação global da doença pelo médico e paciente através da escala visual analógica (EVA), e *Health Assessment*

*Questionnaire* (HAQ) (73-75). Estes questionários foram aplicados no início do estudo e na 12<sup>a</sup> semana para avaliação da doença estável e se houve alguma alteração nesses parâmetros após as intervenções; (e) fatores de risco para doenças cardiovasculares (76): se é hipertenso ou estava em uso de medicação anti-hipertensiva, diabético, sedentário (baseando-se no questionário internacional de atividade física, 26 traduzido para a língua portuguesa e validado para a população brasileira (IPAQ) (77).

**Exames laboratoriais.** Foram coletados, em período menor do que uma semana após a entrevista dos pacientes, no tempo 0 (início do estudo), e na 12<sup>a</sup> semana, amostras de soro (10 mL de soro e de plasma) para análise de CPK, AST, ALT, DHL, além de colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, triglicerídeos, glicemia de jejum, insulina e resistência à insulina (*Homeostatic Model Assessment: HOMA*) (78). Esses dados estão publicados em artigo prévio (72).

**Biópsia muscular.** A biópsia muscular foi realizada por um único médico experiente através de punção no músculo vasto lateral com agulha de Bergström em duas ocasiões: a primeira em até uma semana antes da intervenção medicamentosa; a segunda, 12 semanas após essa intervenção. O procedimento cirúrgico foi realizado após jejum noturno de 8 horas. As amostras foram manipuladas cuidadosamente, sendo retirado todo o tecido adiposo assim como o sangue visível e, congeladas imediatamente em nitrogênio líquido para posterior análise de expressão gênica. Para a análise histológica, foi dissecado aproximadamente 30 mg de amostra, embebidas em Tissue-Tek OCT compound (Sakura Finetek, Torrance, CA, EUA) e congeladas imediatamente em nitrogênio líquido.

**Extração de RNA.** Para a extração de RNA total de tecidos musculares, foi utilizado o kit RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, EUA) com tratamento com DNase livre de RNase (Qiagen). As avaliações de integridade e concentração de RNA foram realizadas usando RNA ScreenTape no TapeStation 4200 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA).

**Sequenciamento em larga escala - análise do transcriptoma.** A construção das bibliotecas foi realizada a partir de 300 ng de RNA total com o kit QuantSeq 3' mRNA-Seq Library Kit FWD para Illumina (Lexogen, Viena, Áustria) de acordo com as recomendações do fabricante. As bibliotecas foram agrupadas e

quantificadas por reação em cadeia da polimerase (PCR) quantitativo usando o Kapa Library Quantification Kit (Kapa Biosystems, Wilmington, MA, EUA). O sequenciamento foi realizado em um sistema NextSeq 500 (Illumina, San Diego, CA, EUA) com 75 ciclos de no Laboratório de Sequenciamento em Larga Escala (SELA) da Rede PREMIUM de equipamentos multiusuários da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O sequenciamento gerou uma média de cinco milhões de leituras por amostra. A análise de bioinformática foi realizada pelo Dr Antônio Marcondes Lerário, colaborador da Universidade de Michigan (EUA). A análise de controle de qualidade foi realizada pelo software FASTQC. As leituras brutas foram alinhadas ao hg38 por meio do software STAR (79). Os arquivos BAM foram processados com as ferramentas bammarkduplicates do biobambam2 e a quantificação dos dados foi realizada por meio do software featureCounts (80,81). O pacote limma do R-Bioconductor foi utilizado para determinar a expressão diferencial dos genes de cada grupo e para transformar os dados (contagens por milhão, CPM) em (81).

Os níveis de expressão de genes que codificam proteínas das vias metabólicas (mitocondrial, oxidativa, insulínica, lipídica, oxidativa e de fibrogênese) foram analisados.

**Análise histológica e histoquímica.** Foram realizados cortes transversais (espessura de 4  $\mu\text{m}$ ) em criostato e corados com hematoxilina-eosina (H&E) para avaliação morfológica celular. A coloração de Gomori modificado foi realizada para análise de possíveis agregados proteicos, mitocondriais e morfologia celular. Succinato desidrogenase (SDH) e NADH-tetrazólio-redutase foram utilizados para avaliação de atividade mitocondrial e adenosina trifosfatase (ATPase) (pH 4,3 e 9,4) para a diferenciação e a distribuição dos tipos de fibras musculares (I, IIA ou IIB). Para a análise de atividade oxidativa, foi utilizada a coloração conjunta citocromo C oxidase (COX) e SDH. A coloração com Oil Red foi empregada para a avaliação de conteúdo lipídico (intra e intermuscular). Foram considerados os seguintes parâmetros para análise: características das fibras musculares (diâmetro, regeneração, necrose, atrofia perifascicular); macrofagia; presença e grau de infiltrado inflamatório (região perimisial, endomisial e/ou perivascular); presença ou não de tecido conjuntivo (endomisial e/ou perimisial); presença ou não de alterações vasculares e conteúdo lipídico. Todas estas análises foram codificadas

de uma forma semiquantitativa, como: (1) leve, (2) moderado ou (3) intenso. Essas análises foram realizadas de forma cega e aleatória por duas pessoas distintas, sendo comparados os resultados posteriormente. Em casos de discordância, uma terceira pessoa também realizou a avaliação. Esse procedimento foi realizado para evitar qualquer viés de análise.

**Análise de complexo de histocompatibilidade principal (MHC) I.** Foi realizada através de imuno-histoquímica utilizando a técnica de imunoperoxidase StreptABComplex/HRP - Duet com anticorpos monoclonais (Dakopatts, Glostrup, Dinamarca) contra MHC I em diluição 1:100. Para análise, foi estabelecida como presente ou ausente.

**Análises estatísticas.** As variáveis quantitativas foram expressas como média e desvio padrão, enquanto as variáveis qualitativas foram expressas como frequência absoluta (n) e relativa (porcentagem). A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de *Shapiro-Wilk*. Para comparar as variabilidades dos genes entre os grupos foi utilizado o teste F, além disso, demais variáveis quantitativas foram comparadas a partir do teste T para duas médias.

## **4. RESULTADOS**

#### 4.1 Caracterização da amostra

As características gerais e basais dos pacientes com DM e SAS estão apresentadas na **Tabela 1**.

A média de idade dos pacientes foi de 46,1 e 47,5 anos, respectivamente, em DM e SAS, com predomínio do sexo feminino. Todos os pacientes apresentavam a doença estável de acordo com os escores de IMACS, e três pacientes de cada grupo estavam em uso de prednisona em doses baixas.



**Tabela 1.** Características gerais, laboratoriais, status da doença, medicamentosa dos pacientes com dermatomiosite e síndrome antissintetase pré e pós intervenção medicamentosa

	DM			SAS		
	pré (n=8)	Atorv (n=6)	Plac (n=2)	pré (n=8)	Atorv (n=5)	Plac (n=3)
<b>Características gerais</b>						
Idade atual (anos)	46,1±10,2	46,3±12,0	45,5±2,1	47,5±9,7	45,1±10,0	55,0±1,4
Sexo feminino	7 (87,5)	5 (83,3)	2 (100,0)	6 (75,0)	3 (60,0)	3 (100)
<b>Status da doença</b>						
EVA do paciente (0-10)	0 (0,0-0,0)	0 (0,0-0,0)	0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,7)	0,0 (0,0-3,4)	0,0 (0,0-0,0)
EVA médico (0-10)	0 (0,0-0,0)	0 (0,0-0,0)	0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
MMT-8 (0-80)	80 (80-80)	80 (80-80)	80 (80-80)	80 (80-80)	80,0 (80-80)	80 (80-80)
MYOACT (0-60)	0 (0,0-0,0)	0 (0,0-0,0)	0 (0,0-0,0)	0 (0,0-0,0)	0 (0,0-0,3)	0 (0,0-0,0)
HAQ (0,00-3,00)	0 (0,00-0,20)	0 (0,00-0,20)	0 (0,00-0,00)	0 (0,00-1,10)	0,12 (0,00-0,06)	0 (0,00-0,00)
CPK (U/L)	268 (208-336)	166 (143-205)	223 (163-284)	125 (93-204)	116 (84-176)	148 (144-151)
AST (U/L)	20 (19-30)	22 (17-28)	23 (19-26)	22 (19-26)	22 (16-29)	21 (20-22)
ALT (U/L)	18 (12-24)	20 (17-41)	19 (11-27)	22 (13-31)	18 (13-33)	13 (9-22)
DHL (U/L)	224 (205-285)	304 (172-323)	204 (204-205)	215 (192-250)	204 (164-250)	272 (255-290)
<b>Medicamentos</b>						
Prednisona	3 (37,5)	1 (16,7)	1 (50,0)	3 (37,5)	1 (20,0)	0
Dose atual (mg/dia)	0 (0,0-5,0)	0 (0,0-3,7)	0	0 (0,0-8,7)	0	0
Azatioprina	3 (37,5)	1 (16,7)	2 (100)	4 (50,0)	2 (40,0)	1 (33,3)
Metotrexato	4 (50,0)	3 (50,0)	0	2 (25,0)	1 (20,0)	1 (33,3)
Micofenolato de mofetila	1 (12,5)	1 (16,7)	0	2 (25,0)	2 (40,0)	1 (33,3)

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

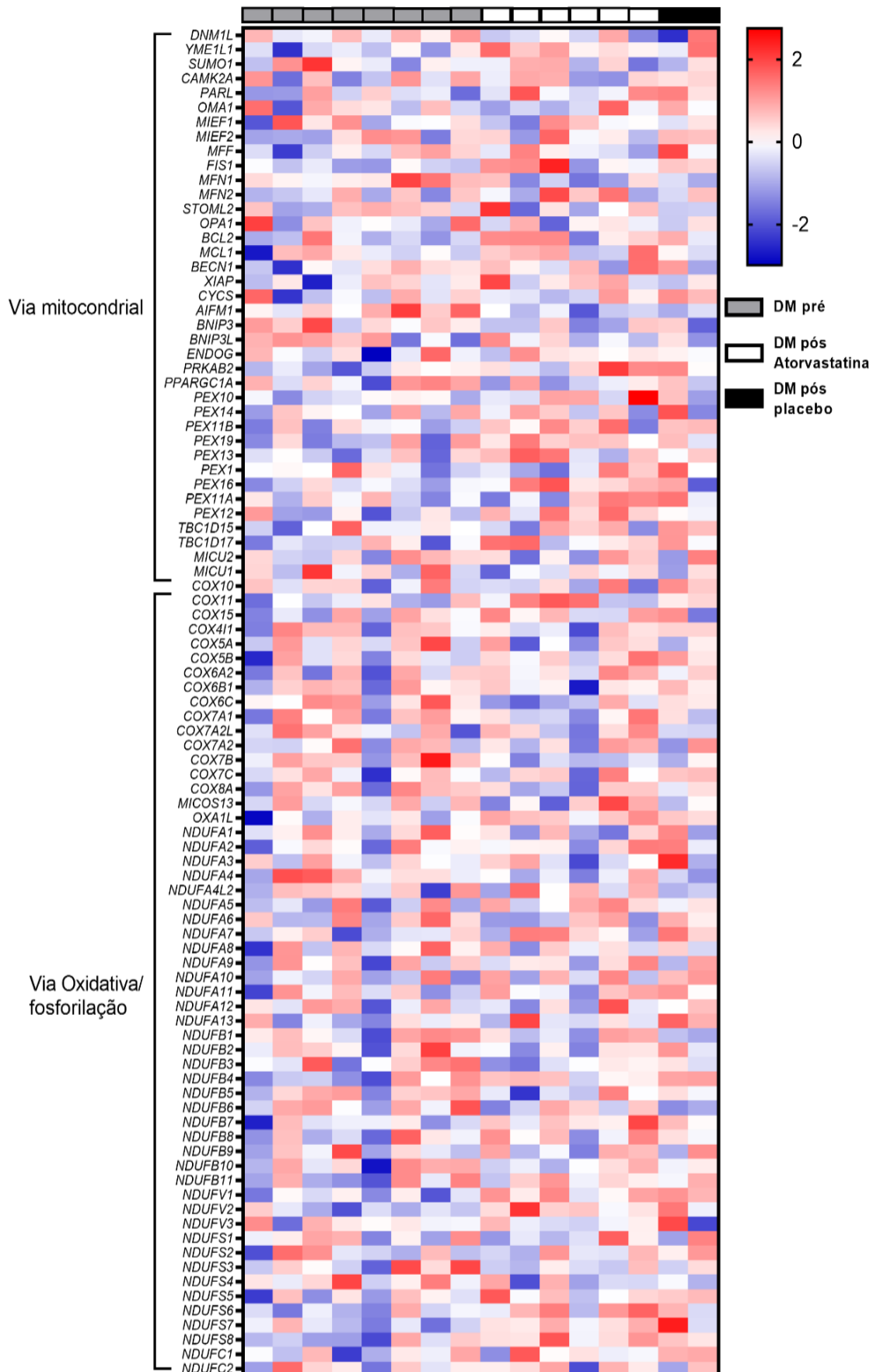
**ALT:** alanina aminotransferase; **AST:** aspartato aminotransferase; **Atorva:** atorvastatina; **CPK:** creatinofosfoquinase; **DHL:** desidrogenase láctica; **DM:** dermatomiosite; **EVA:** escala visual analógica; **HAQ:** Health Assessment Questionnaire; **MMT-8:** Manual Muscle Testing-8; **MYOACT:** Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scale; **Plac:** placebo; **SAS:** síndrome antissintetase.

## 4.2 Análise da expressão gênica

Nas análises de vias relacionadas a processos biológicos e em relação às vias gênicas específicas, como via mitocondrial, oxidativa, insulínica, lipídica e de fibrogênese, e nenhum gene teve sua regulação positiva ou negativa após a intervenção com atorvastatina em pacientes com DM (**Figuras 3 e 4**).

Nas análises de dados do transcriptoma de SAS, não houve alteração de genes de vias mitocondrial, oxidativa, lipídica, insulínica e de fibrogênese (**Figura 5 e 6**).

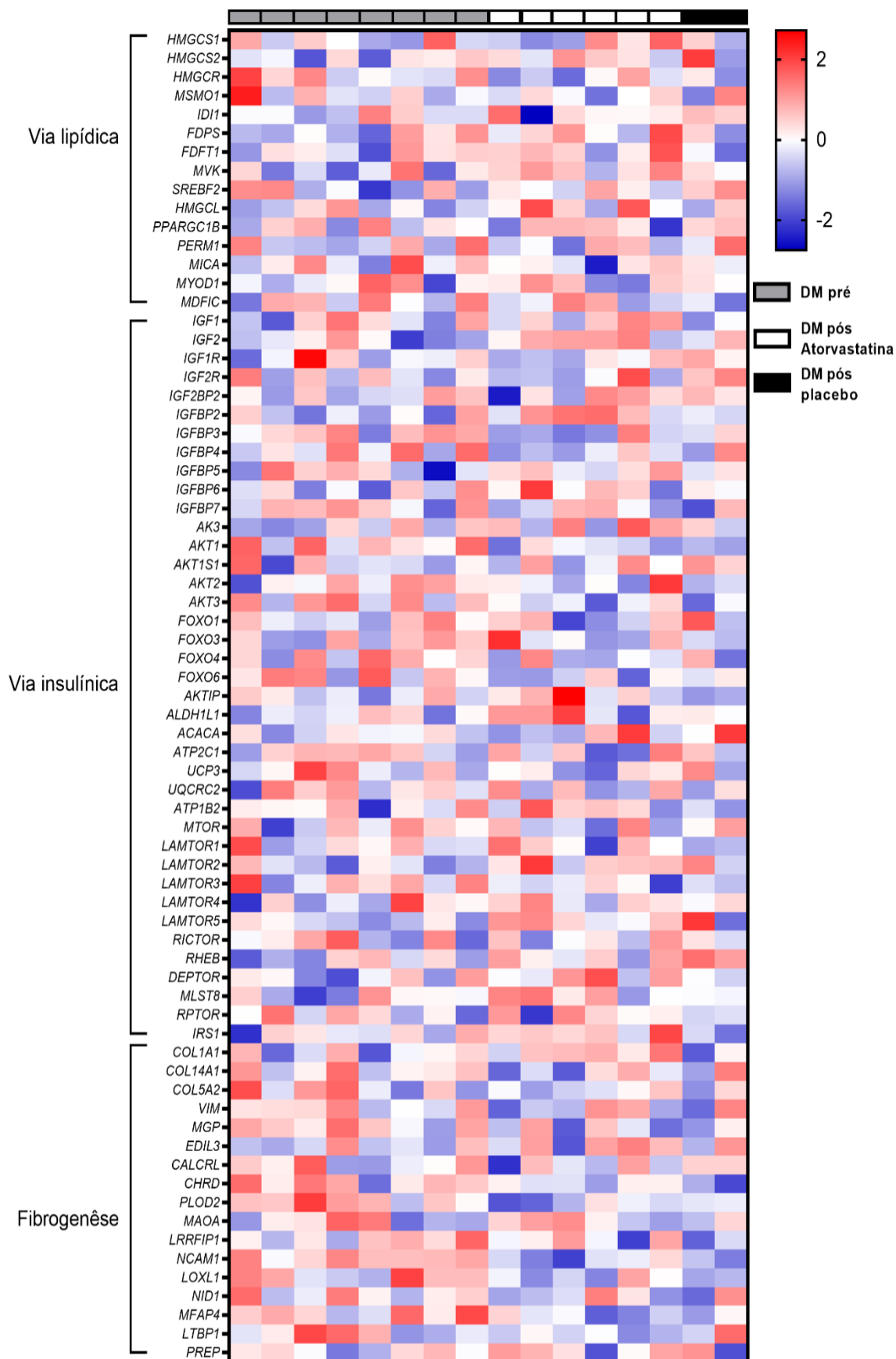
**Figura 3.** Expressão gênica nas vias mitocondrial e fosforilação oxidativa pré e pós-intervenção com atorvastatina ou placebo em biópsias dos pacientes com dermatomiosite.



**DNM1L:** Dynamin 1 Like, **YME1L1:** Yme1 Like 1 Atpase, **SUMO1:** Small Ubiquitin Like Modifier 1, **CAMK2A:** Calcium/Calmodulin Dependent Protein Kinase Ii Alpha, **PARL:** Presenilin Associated Rhomboid Like, **OMA1:** Oma1 Zinc Metallopeptidase, **MIEF1:** Mitochondrial Elongation Factor 1, **MIEF2:** Mitochondrial Elongation Factor 2, **MFF:** Mitochondrial Fission Factor, **FIS1:** Fission, Mitochondrial 1, **MFN1:** Mitofusin 1, **MFN2:** Mitofusin 2, **STOML2:** Stomatin Like 2, **OPA1:** Opa1 Mitochondrial Dynamin Like Gtpase, **BCL2:** Bcl2 Apoptosis Regulator, **MCL1:** Mcl1 Apoptosis Regulator, Bcl2 Family Member, **BECN1:** Beclin 1, **XIAP:** X-Linked Inhibitor Of Apoptosis, **CYCS:** Cytochrome C, Somatic, **AIFM1:** Apoptosis Inducing Factor Mitochondria Associated 1, **BNIP3:** Bcl2 Interacting Protein 3, **BNIP3L:** Bcl2 Interacting Protein 3 Like, **ENDOG:** Endonuclease G, **PRKAB2:** Protein Kinase Amp-Activated Non-Catalytic Subunit Beta 2, **PPARGC1A:** Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha, **PEX10:** Peroxisomal Biogenesis Factor 10, **PEX14:** Peroxisomal Biogenesis Factor 14, **PEX11B:** Peroxisomal Biogenesis Factor 11 Beta, **PEX19:** Peroxisomal Biogenesis Factor 19, **PEX13:** Peroxisomal Biogenesis Factor 13, **PEX1:** Peroxisomal Biogenesis Factor 1,

**PEX16:** Peroxisomal Biogenesis Factor 16, **PEX11A:** Peroxisomal Biogenesis Factor 11 Alpha, **PEX12:** Peroxisomal Biogenesis Factor 12, **TBC1D15:** Tbc1 Domain Family Member 15, **TBC1D17:** Tbc1 Domain Family Member 17, **MICU2:** Mitochondrial Calcium Uptake 2, **MICU1:** Mitochondrial Calcium Uptake 1, **COX10:** Cytochrome C Oxidase Assembly Factor Heme A:Farnesyltransferase Cox10, **COX11:** Cytochrome C Oxidase Copper Chaperone Cox11, **COX15:** Cytochrome C Oxidase Assembly Homolog Cox15, **COX4I1:** Cytochrome C Oxidase Subunit 4I1, **COX5A:** Cytochrome C Oxidase Subunit 5A, **COX5B:** Cytochrome C Oxidase Subunit 5B, **COX6A2:** Cytochrome C Oxidase Subunit 6A2, **COX6B1:** Cytochrome C Oxidase Subunit 6B1, **COX6C:** Cytochrome C Oxidase Subunit 6C, **COX7A1:** Cytochrome C Oxidase Subunit 7A1, **COX7A2L:** Cytochrome C Oxidase Subunit 7A2 Like, **COX7A2:** Cytochrome C Oxidase Subunit 7A2, **COX7B:** Cytochrome C Oxidase Subunit 7B, **COX7C:** Cytochrome C Oxidase Subunit 7C, **COX8A:** Cytochrome C Oxidase Subunit 8<sup>a</sup>, **MICOS13:** Mitochondrial Contact Site And Cristae Organizing System Subunit 13, **OXA1L:** Oxa1L Mitochondrial Inner Membrane Protein, **NDUFA1:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A1, **NDUFA2:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A2, **NDUFA3:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A3, **NDUFA4:** Ndufa4 Mitochondrial Complex Associated, **NDUFA4L2:** Ndufa4 Mitochondrial Complex Associated Like 2, **NDUFA5:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A5, **NDUFA6:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A6, **NDUFA7:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A7, **NDUFA8:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A8, **NDUFA9:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A9, **NDUFA10:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A10, **NDUFA11:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A11, **NDUFA12:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A12, **NDUFA13:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A13, **NDUFB1:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B1, **NDUFB2:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B2, **NDUFB3:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B3, **NDUFB4:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B4, **NDUFB5:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B5, **NDUFB6:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B6, **NDUFB7:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B7, **NDUFB8:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B8, **NDUFB9:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B9, **NDUFB10:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B10, **NDUFB11:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B11, **NDUFV1:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit V1, **NDUFV2:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit V2, **NDUFV3:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit V3, **NDUFS1:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S1, **NDUFS2:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S2, **NDUFS3:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S3, **NDUFS4:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit S4, **NDUFS5:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit S5, **NDUFS6:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit S6, **NDUFS7:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S7, **NDUFS8:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S8, **NDUFC1:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit C1, **NDUFC2:** Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit C2.

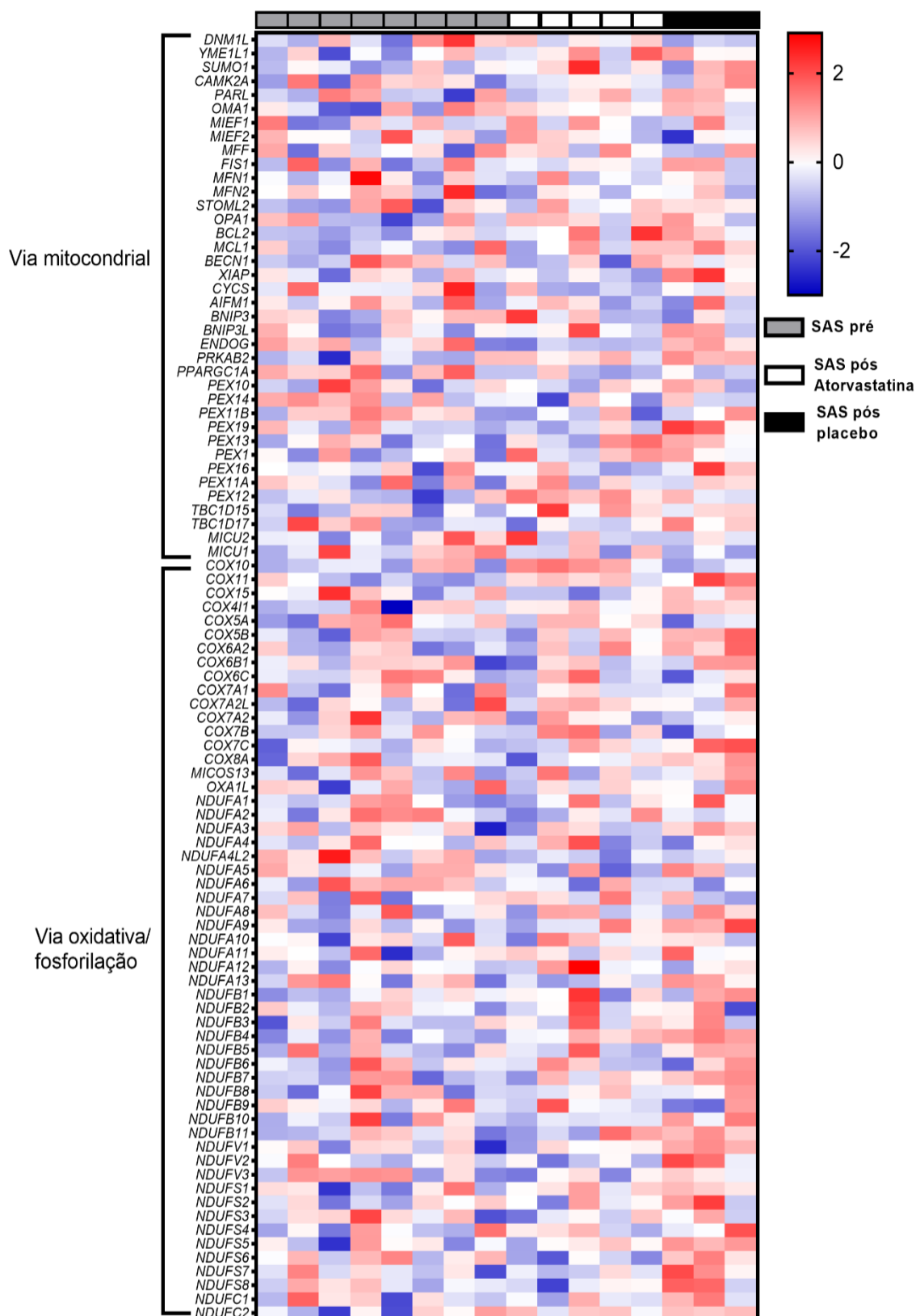
**Figura 4.** Expressão gênica nas vias mitocondrial e fosforilação oxidativa pré e pós-intervenção com atorvastatina ou placebo em biópsias dos pacientes com dermatomiosite.



**HMGCS2:** 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coa Synthase 2, **HMGCS1:** 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coa Synthase 1, **HMGCR:** 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coa Reductase, **MSMO1:** Methylsterol Monooxygenase 1: **IDI1:** Isopentenyl-Diphosphate Delta Isomerase 1, **FDPS:** Farnesyl Diphosphate Synthase, **FDFT1:** Farnesyl-Diphosphate Farnesyltransferase 1, **MVK:** Mevalonate Kinase, **SREBF2:** Sterol Regulatory Element Binding Transcription Factor 2, **HMGCL:** 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coa Lyase, **PPARGC1B:** Pparg Coactivator 1 Beta, **PERM1:** Ppargc1 And Esrr Induced Regulator, Muscle 1, **MICA:** Mhc Class I Polypeptide-Related Sequence A, **MYOD1:** Myogenic Differentiation 1, **MDFIC:** Myod Family Inhibitor Domain Containing, **IGF1:** Insulin Like Growth Factor 1, **IGF2:** Insulin Like Growth Factor 2, **IGF1R:** Insulin Like Growth Factor 1 Receptor, **IGF2R:** Insulin Like Growth Factor 2 Receptor, **IGF2BP2:** Insulin Like Growth Factor 2 Mrna Binding Protein 2, **IGFBP2:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 2, **IGFBP3:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 3, **IGFBP4:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 4, **IGFBP5:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 5, **IGFBP6:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 6, **IGFBP7:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 7, **AK3:** Adenylate Kinase 3-Like, **AKT1:** Akt Serine/Threonine Kinase 1, **AKT1S1:** Akt1 Substrate 1, **AKT2:** Akt

Serine/Threonine Kinase 2, **AKT3**: Akt Serine/Threonine Kinase 3, **FOXO1**: Forkhead Box O1, **FOXO3**: Forkhead Box O3, **FOXO4**: Forkhead Box O4, **FOXO6**: Forkhead Box O6, **AKTIP**: Akt Interacting Protein, **ALDH1L1**: Aldehyde Dehydrogenase 1 Family, Member L1, **ACACA**: Acetyl-Coenzyme A Carboxylase Alpha, **ATP2C1**: Atpase, Ca<sup>++</sup>Transporting, Type 2C, Member 1, **UCP3**: Uncoupling Protein 3 (Mitochondrial, Proton Carrier), **UQCRC2**: Ubiquinol-Cytochrome C Reductase Core Protein Ii, **ATP1B2**: Atpase, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>Transporting, B2 Polypeptide, **MTOR**: Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase, **LAMTOR1**: Late Endosomal/Lysosomal Adaptor, Mapk And Mtor Activator 1, **LAMTOR2**: Late Endosomal/Lysosomal Adaptor, Mapk And Mtor Activator 2, **LAMTOR3**: Late Endosomal/Lysosomal Adaptor, Mapk And Mtor Activator 3, **LAMTOR5**: Late Endosomal/Lysosomal Adaptor, Mapk And Mtor Activator 5, **RICTOR**: Rptor Independent Companion Of Mtor Complex 2, **LAMTOR4**: Late Endosomal/Lysosomal Adaptor, Mapk And Mtor Activator 4, **RHEB**: Ras Homolog, Mtorc1 Binding, **DEPTOR**: Dep Domain Containing Mtor Interacting Protein, **MLST8**: Mtor Associated Protein, Lst8 Homolog, **RPTOR**: Regulatory Associated Protein Of Mtor Complex 1, **IRS1**: Insulin Receptor Substrate 1, **COL1A1**: Collagen, Type I, Alfa 1, **COL14A1**: Collagen, Type Xiv, A 1 (Undulin), **COL5A2**: Collagen, Type V, A 2, **VIM**: Vimentin, **MGP**: Matrix Gla Protein, **EDIL3**: Egf-Like Repeats And Discoidin Ilike Domains 3, **CALCRL**: Calcitonin Receptor-Like, **CHRD**: Chordin, **PLOD2**: Procollagen-Lysine, 2-Oxoglutarate 5-Dioxygenase 2, **MAOA**: Monoamine Oxidase A, **LRRFIP1**: Leucine Rich Repeat (In Flii) Interacting Protein 1, **NCAM1**: Neural Cell Adhesion Molecule 1, **LOXL1**: Lysyl Oxidase Like 1, **NID1**: Nidogen 1, **MFAP4**: Microfibril Associated Protein 4, **LTBP1**: Latent Transforming Growth Factor Beta Binding Protein 1, **PREP**: Prolyl Endopeptidase.

**Figura 5.** Expressão gênica nas vias mitocondrial e fosforilação oxidativa pré e pós-intervenção com atorvastatina ou placebo em biópsias dos pacientes com síndrome antissintetase.

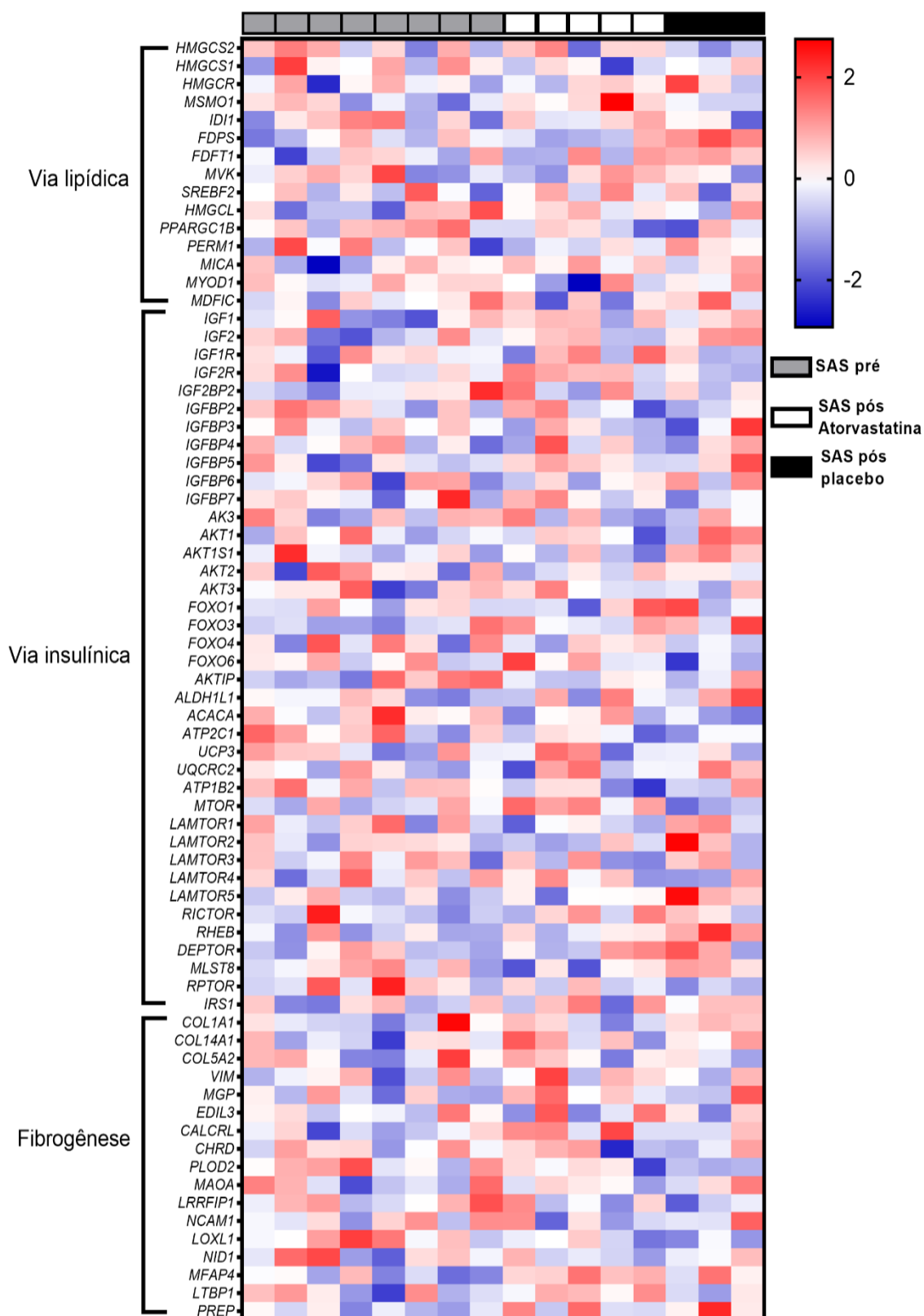


**DNM1L:** Dynamin 1 Like, **YME1L1:** Yme1 Like 1 Atpase, **SUMO1:** Small Ubiquitin Like Modifier 1, **CAMK2A:** Calcium/Calmodulin Dependent Protein Kinase Ii Alpha, **PARL:** Presenilin Associated Rhomboid Like, **OMA1:** Oma1 Zinc Metallopeptidase, **MIEF1:** Mitochondrial Elongation Factor 1, **MIEF2:** Mitochondrial Elongation Factor 2, **MFF:** Mitochondrial Fission Factor, **FIS1:** Fission, Mitochondrial 1, **MFN1:** Mitofusin 1, **MFN2:** Mitofusin 2, **STOML2:** Stomatin Like 2, **OPA1:** Opa1 Mitochondrial Dynamin Like Gtpase, **BCL2:** Bcl2 Apoptosis Regulator, **MCL1:** Mcl1 Apoptosis Regulator, Bcl2 Family Member, **BECN1:** Beclin 1, **XIAP:** X-Linked Inhibitor Of Apoptosis, **CYCS:** Cytochrome C, Somatic, **AIFM1:** Apoptosis Inducing Factor Mitochondria Associated 1, **BNIP3:** Bcl2 Interacting Protein 3, **BNIP3L:** Bcl2 Interacting Protein 3 Like, **ENDOG:** Endonuclease G, **PRKAB2:** Protein Kinase Amp-Activated Non-Catalytic Subunit Beta 2, **PPARGC1A:** Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha, **PEX10:** Peroxisomal Biogenesis Factor 10, **PEX14:** Peroxisomal Biogenesis Factor 14, **PEX11B:** Peroxisomal Biogenesis Factor 11 Beta, **PEX19:** Peroxisomal Biogenesis Factor 19, **PEX13:** Peroxisomal Biogenesis Factor 13, **PEX1:** Peroxisomal Biogenesis Factor 1, **PEX16:** Peroxisomal Biogenesis Factor 16, **PEX11A:** Peroxisomal Biogenesis Factor 11 Alpha, **PEX12:**

Peroxisomal Biogenesis Factor 12, **TBC1D15**: Tbc1 Domain Family Member 15, **TBC1D17**: Tbc1 Domain Family Member 17, **MICU2**: Mitochondrial Calcium Uptake 2, **MICU1**: Mitochondrial Calcium Uptake 1, **COX10**: Cytochrome C Oxidase Assembly Factor Heme A:Farnesyltransferase Cox10, **COX11**: Cytochrome C Oxidase Copper Chaperone Cox11, **COX15**: Cytochrome C Oxidase Assembly Homolog Cox15, **COX4I1**: Cytochrome C Oxidase Subunit 4I1, **COX5A**: Cytochrome C Oxidase Subunit 5A, **COX5B**: Cytochrome C Oxidase Subunit 5B, **COX6A2**: Cytochrome C Oxidase Subunit 6A2, **COX6B1**: Cytochrome C Oxidase Subunit 6B1, **COX6C**: Cytochrome C Oxidase Subunit 6C, **COX7A1**: Cytochrome C Oxidase Subunit 7A1, **COX7A2L**: Cytochrome C Oxidase Subunit 7A2 Like, **COX7A2**: Cytochrome C Oxidase Subunit 7A2, **COX7B**: Cytochrome C Oxidase Subunit 7B, **COX7C**: Cytochrome C Oxidase Subunit 7C, **COX8A**: Cytochrome C Oxidase Subunit 8A, **MICOS13**: Mitochondrial Contact Site And Cristae Organizing System Subunit 13, **OXA1L**: Oxa1L Mitochondrial Inner Membrane Protein, **NDUFA1**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A1, **NDUFA2**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A2, **NDUFA3**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A3, **NDUFA4**: Ndufa4 Mitochondrial Complex Associated, **NDUFA4L2**: Ndufa4 Mitochondrial Complex Associated Like 2, **NDUFA5**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A5, **NDUFA6**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A6, **NDUFA7**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A7, **NDUFA8**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A8, **NDUFA9**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A9, **NDUFA10**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A10, **NDUFA11**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A11, **NDUFA12**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A12, **NDUFA13**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit A13, **NDUFB1**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B1, **NDUFB2**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B2, **NDUFB3**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B3, **NDUFB4**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B4, **NDUFB5**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B5, **NDUFB6**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B6, **NDUFB7**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B7, **NDUFB8**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B8, **NDUFB9**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B9, **NDUFB10**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B10, **NDUFB11**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit B11, **NDUFV1**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit V1, **NDUFV2**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit V2, **NDUFV3**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit V3, **NDUFS1**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S1, **NDUFS2**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S2, **NDUFS3**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S3, **NDUFS4**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit S4, **NDUFS5**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit S5, **NDUFS6**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit S6, **NDUFS7**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S7, **NDUFS8**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S8, **NDUFC1**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit C1, **NDUFC2**: Ndh:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit C2.



**Figura 6.** Expressão gênica nas vias lipídica, insulínica e de fibrogênese pré e pós-intervenção com atorvastatina ou placebo em biópsias dos pacientes com síndrome antissintetase



**HMGC2:** 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coa Synthase 2, **HMGC1:** 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coa Synthase 1, **HMGC2:** 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coa Reductase, **MSMO1:** Methylsterol Monooxygenase 1: **IDI1:** Isopentenyl-Diphosphate Delta Isomerase 1, **FDPS:** Farnesyl Diphosphate Synthase, **FDFT1:** Farnesyl-Diphosphate Farnesyltransferase 1, **MVK:** Mevalonate Kinase, **SREBF2:** Sterol Regulatory Element Binding Transcription Factor 2, **HMGCL:** 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coa Lyase, **PPARGC1B:** Pparg Coactivator 1 Beta, **PERM1:** Ppargc1 And Esrr Induced Regulator, Muscle 1, **MICA:** Mhc Class I Polypeptide-Related Sequence A, **MYOD1:** Myogenic Differentiation 1, **MDFIC:** Myod Family Inhibitor Domain Containing, **IGF1:** Insulin Like Growth Factor 1, **IGF2:** Insulin Like Growth Factor 2, **IGF1R:** Insulin Like Growth Factor 1 Receptor, **IGF2R:** Insulin Like Growth Factor 2 Receptor, **IGF2BP2:** Insulin Like Growth Factor 2 Mrna Binding Protein 2, **IGFBP2:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 2, **IGFBP3:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 3, **IGFBP4:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 4, **IGFBP5:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 5, **IGFBP6:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 6, **IGFBP7:** Insulin Like Growth Factor Binding Protein 7, **AK3:** Adenylate Kinase 3-Like, **AKT1:** Akt Serine/Threonine Kinase 1, **AKT1S1:** Akt1 Substrate 1, **AKT2:** Akt Serine/Threonine Kinase 2, **AKT3:** Akt Serine/Threonine Kinase 3, **FOXO1:** Forkhead Box O1, **FOXO3:** Forkhead Box O3, **FOXO4:** Forkhead Box O4, **FOXO6:** Forkhead Box O6, **AKTIP:** Akt Interacting Protein,

**ALDH1L1**: Aldehyde Dehydrogenase 1 Family, Member L1, **ACACA**: Acetyl-Coenzyme A Carboxylase Alpha, **ATP2C1**: Atpase, Ca<sup>++</sup>Transporting, Type 2C, Member 1, **UCP3**: Uncoupling Protein 3 (Mitochondrial, Proton Carrier), **UQCRC2**: Ubiquinol-Cytochrome C Reductase Core Protein li, **ATP1B2**: Atpase, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>Transporting, B2 Polypeptide, **MTOR**: Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase, **LAMTOR1**: Late Endosomal/Lysosomal Adaptor, Mapk And Mtor Activator 1, **LAMTOR2**: Late Endosomal/Lysosomal Adaptor, Mapk And Mtor Activator 2, **LAMTOR3**: Late Endosomal/Lysosomal Adaptor, Mapk And Mtor Activator 3, **LAMTOR5**: Late Endosomal/Lysosomal Adaptor, Mapk And Mtor Activator 5, **RICTOR**: Rptor Independent Companion Of Mtor Complex 2, **LAMTOR4**: Late Endosomal/Lysosomal Adaptor, Mapk And Mtor Activator 4, **RHEB**: Ras Homolog, Mtorc1 Binding, **DEPTOR**: Dep Domain Containing Mtor Interacting Protein, **MLST8**: Mtor Associated Protein, Lst8 Homolog, **RPTOR**: Regulatory Associated Protein Of Mtor Complex 1, **IRS1**: Insulin Receptor Substrate 1, **COL1A1**: Collagen, Type I, Alfa 1, **COL14A1**: Collagen, Type Xiv, A 1 (Undulin), **COL5A2**: Collagen, Type V, A 2, **VIM**: Vimentin, **MGP**: Matrix Gla Protein, **EDIL3**: Egf-Like Repeats And Discoidin Ilike Domains 3, **CALCRL**: Calcitonin Receptor-Like, **CHRD**: Chordin, **PLOD2**: Procollagen-Lysine, 2-Oxoglutarate 5-Dioxygenase 2, **MAOA**: Monoamine Oxidase A, **LRRFIP1**: Leucine Rich Repeat (In Flii) Interacting Protein 1, **NCAM1**: Neural Cell Adhesion Molecule 1, **LOXL1**: Lysyl Oxidase Like 1, **NID1**: Nidogen 1, **MFAP4**: Microfibril Associated Protein 4, **LTBP1**: Latent Transforming Growth Factor Beta Binding Protein 1, **PREP**: Prolyl Endopeptidase.

### 4.3 Análise histológica e histoquímica

#### Dermatomiosite

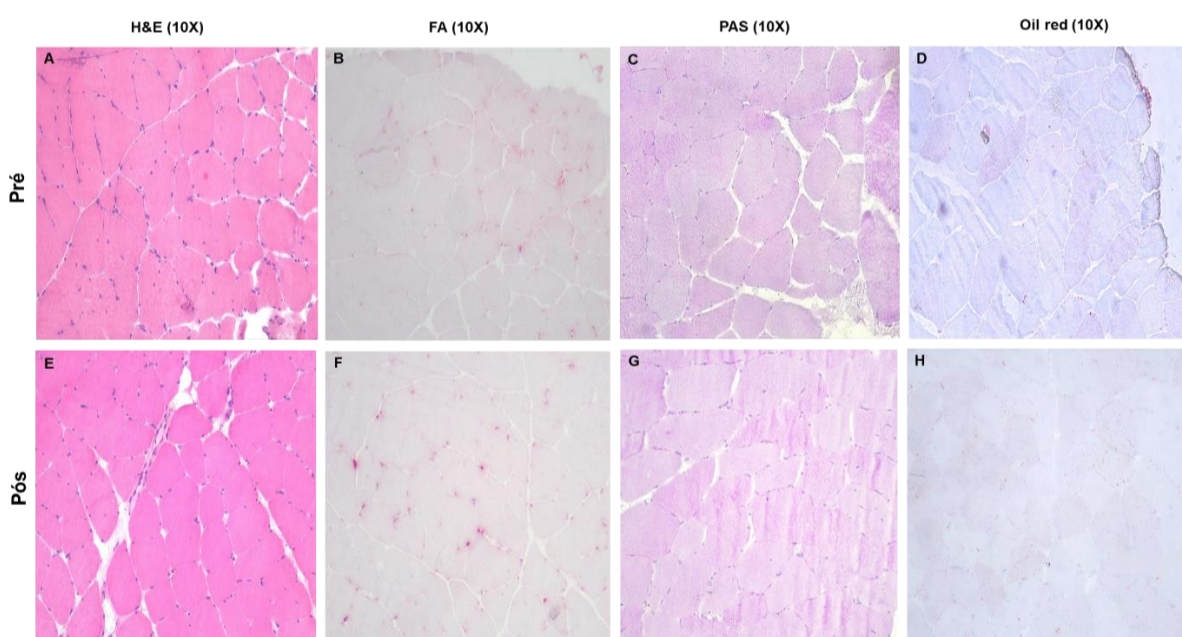
No grupo DM de um modo geral, foi observada leve variabilidade do tamanho das fibras. Houve preservação do mosaico das fibras musculares tipo I e II, da arquitetura interna das fibras íntegras, e das regiões endomisial, perimisial e perivascular (**Figuras 7 e 8**).

Não foram observadas necrose ou atrofia das fibras, falhas focais ou acúmulo de agregados subsarcolemais, acúmulo lipídico, áreas de fibrose, alterações das atividades mitocondriais ou presença de fibras COX negativas.

Em nenhuma amostra havia presença de infiltrado inflamatório.

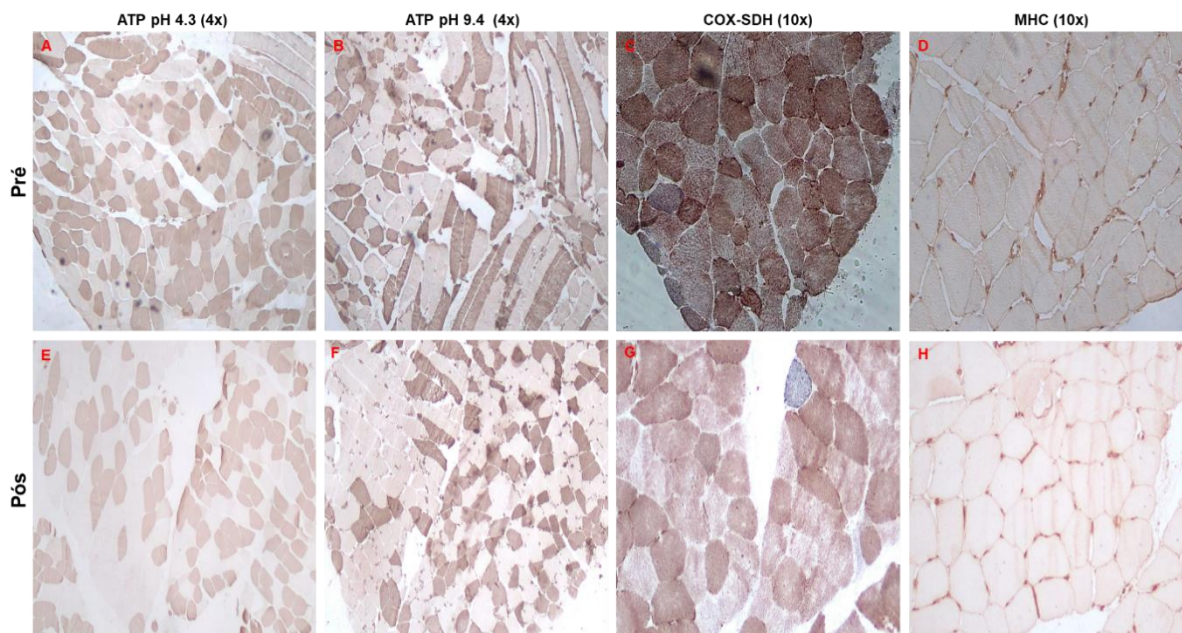
Após a intervenção (atorvastatina ou placebo), não foi observada nenhuma alteração em todos os parâmetros previamente analisados (**Figuras 7 e 8**).

**Figura 7** - Análise histológica em pacientes com dermatomiosite



Hematoxilina-eosina - H&E (A e E); fosfatase ácida (B e F); ácido periódico de schiff - PAS (C E G); Oil Red (D E H).

**Figura 8** - Análise histológica em pacientes com dermatomiosite



Adenosina trifosfatase - ATP (pH 4,3) (A e E); adenosina trifosfatase ATP (pH 9,4) (B e F); citocromo C oxidase - COX-SDH (C e G); major histocompatibility complex (MHC) classe I – (D e H).

### Síndrome antissintetase

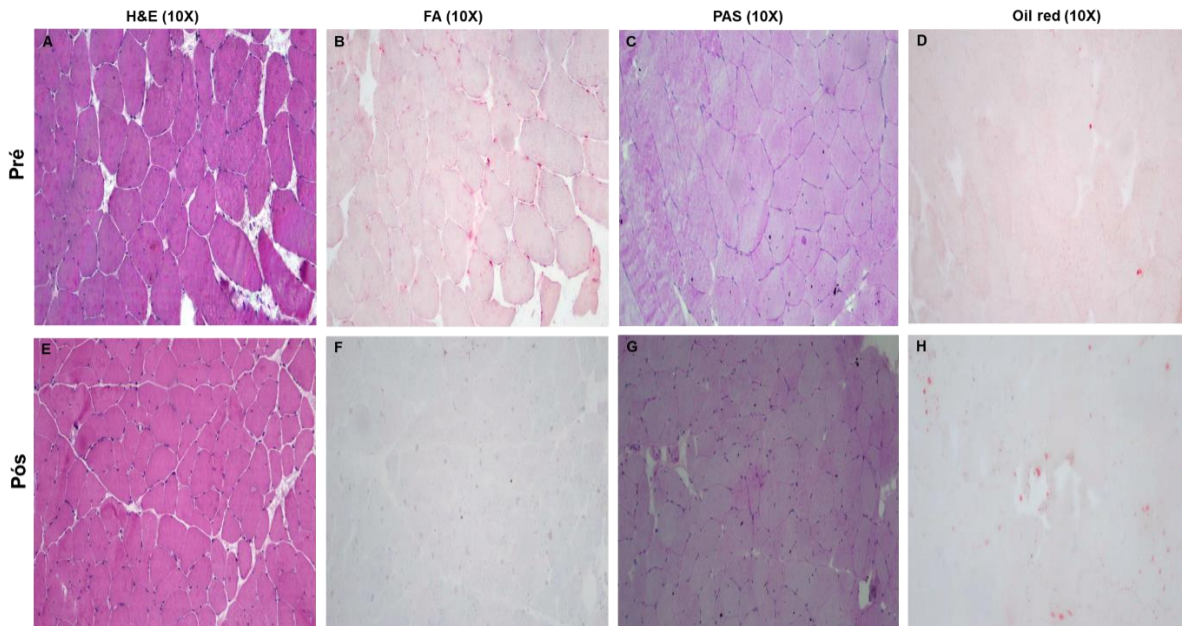
Na análise histológica em pacientes com síndrome antissintetase, observamos leve variabilidade no tamanho das fibras, ausência de fibrose e necrose. O mosaico das fibras musculares tipo I e II estavam preservadas, assim como a arquitetura interna das fibras íntegras e das regiões endomisial, perimisial e perivascular (**Figuras 9 e 10**).

Não foram observadas a presença de falhas focais, acúmulo de agregados subsarcolemais, áreas de fibrose, acúmulo de lipídeos, alterações mitocondriais ou presença de fibras COX negativas.

Em todas as amostras, havia presença leve de atividade inflamatória identificada através da fosfatase ácida, porém não observamos a presença de infiltrados inflamatórios.

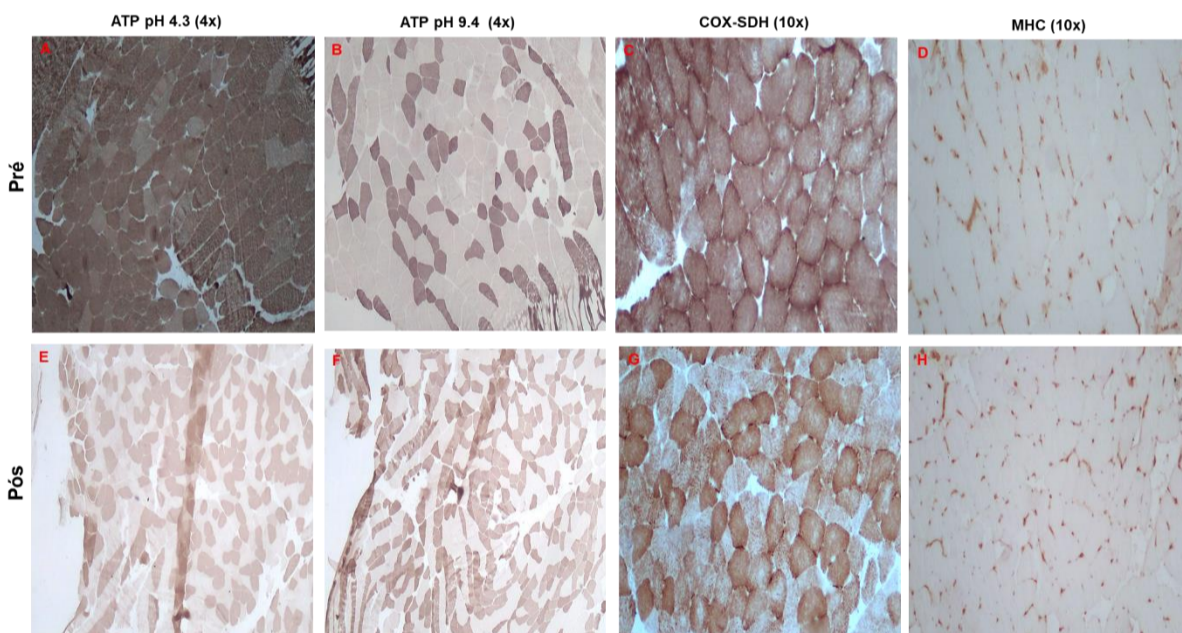
Após a intervenção com atorvastatina ou placebo, não foi observada nenhuma alteração nos parâmetros citados anteriormente (**Figuras 9 e 10**).

**Figura 9** - Análise histológica em pacientes com síndrome antissintetase



Hematoxilina-eosina - H&E (A e E); fosfatase ácida (B e F); ácido periódico de schiff - PAS (C E G); Oil Red (D E H).

**Figura 7** - Análise histológica em pacientes com síndrome antissintetase



Adenosina trifosfatase - ATPase (pH 4,3) (A e E); adenosina trifosfatase ATPase (pH 9,4) (B e F); citocromo C oxidase - COX-SDH (C e G); major histocompatibility complex (MHC) classe I – (D e H).

#### 4.4. Análise histoquímicas e do MHC I

##### **Dermatomiosite**

Nas amostras basais de biópsias de DM, foi observado leve aumento das moléculas de MHC I na superfície das fibras musculares e membrana plasmática, com predomínio endomisial presente em todas as amostras. Há presença de MHC I também ao redor dos vasos sanguíneos e capilares. Esse parâmetro se manteve após 12 semanas de uso da atorvastatina (**Figura 9**).

##### **Síndrome antissintetase**

No grupo de pacientes com SAS, no tempo pré intervenção, foi observado aumento moderado das moléculas de MHC I na superfície das fibras musculares, sendo o predomínio endomisial. Esse parâmetro foi observado em todas as amostras e permaneceu após a intervenção com atorvastatina e placebo (**Figura 10**).

## **5. DISCUSSÃO**

Este é o primeiro estudo que analisou o impacto de atorvastatina sobre a expressão gênica de tecidos musculares de pacientes DM ou SAS com dislipidemia. Os resultados mostraram que não houve alteração na expressão de genes envolvidos nas vias lipídicas, oxidativas, mitocondriais, insulínicas e de fibrogênese. Do ponto de vista histológico não foram observadas necrose ou atrofia das fibras, assim como acúmulo de agregados subsarcolemais, lipídico, área de fibrose, alterações inflamatórias e de atividades mitocondriais ou presença de fibras COX negativo.

Como pontos fortes do estudo, podemos citar os critérios rigorosos utilizados na seleção dos pacientes com DM e SAS (60). Além disso, as biópsias musculares foram realizadas pelo mesmo médico durante todo o protocolo.

Como limitações, temos uma amostragem pequena, por se tratar de doenças raras, porém, realizamos o sequenciamento de todos os transcritos e não somente de genes de interesse.

A disfunção mitocondrial pode ocorrer, mesmo que de forma rara, em pacientes que fazem o uso de estatinas, alterando por exemplo a cadeia respiratória mitocondrial. Em um estudo utilizando biópsias musculares de deltoides de pacientes com miopatia induzida por estatinas foi demonstrado que a função mitocondrial estava prejudicada, juntamente com alta indução da produção de espécies reativas de oxigênio, tendo também regulação negativa da expressão de mRNA de PGC-1 $\alpha$  e PGC-1 $\beta$ , o que sugere a desativação da via de sinalização da via de biogênese mitocondrial (82). Esse resultado corrobora com alguns estudos disponíveis na literatura que mostram que apesar de raro, as mitocôndrias presentes no músculo esquelético, podem ser prejudicadas após o tratamento com estatinas (61,62,83). Nos grupos de DM e SAS, não houve alteração da expressão de genes das vias relacionadas a mitocôndria e fosforilação oxidativa

Não encontramos diferença significativa na expressão de genes que foram analisados e relacionados à via mitocondrial tanto em DM quanto em SAS, assim como alterações relacionadas ao citocromo C oxidase. De acordo com um estudo realizado com pacientes sem MAS e que fizeram o uso de estatinas, essa classe de medicações, mesmo que de forma rara, podem induzir a liberação de citocromo C oxidase, que pode ser responsável pela formação de apoptossomo e, conseqüentemente causar apoptose celular (61).



Não houve também o enriquecimento da via insulínica, entretanto, observamos alterações pontuais na expressão dos genes relacionados.

Do ponto de vista laboratorial, o estudo prévio (72) mostrou que o uso de atorvastatina não promoveu alterações séricas de glicose, insulina e peptídeo C, avaliando o índice HOMA, corroborando com os dados obtidos a nível molecular do presente estudo.

Na literatura, há evidências que as estatinas, eventualmente, podem ocasionar o aumento de incidência de diabetes mellitus (64,65) em pacientes sem MAS e em relação aos efeitos ocasionados diretamente a sensibilidade à insulina são discutíveis, tendo evidências que a resistência insulínica pode estar associada principalmente à disfunção mitocondrial (66,67).

Em um ensaio clínico randomizado, duplo cego utilizando placebo e diversas doses de atorvastatina em 213 pacientes com hipercolesterolemia, foi demonstrado que o grupo que sofreu intervenção com atorvastatina teve os níveis de HbA1c aumentados, que foi acompanhado pelo aumento dos níveis de insulina em jejum, redução da sensibilidade à insulina e diminuição dos níveis de adiponectina (69). Um outro estudo (JUPITER) realizado com 17603 homens e mulheres, sem diabetes, que fizeram o uso de placebo ou rosuvastatina 20 mg/dia acompanhados por 5 anos, mostrou que o risco de desenvolver diabetes por uso de estatinas pode estar relacionado a uma predisposição do indivíduo de elevação da glicemia em jejum, o que leva ao aumento da hemoglobina glicada, associada a obesidade grave (68).

Histologicamente, avaliamos as colorações pré e pós intervenção no grupo DM e SAS, não observamos alterações significativas em relação a morfologia celular, variabilidade das fibras, assim como atrofia. Não foi observado também acúmulo mitocondrial subsarcolemal, fibras “rasgadas vermelhas” e alterações no mosaico de fibras tipo I e tipo II. Na literatura há trabalhos que relatam que biópsias de pacientes com miopatias desencadeadas por uso de estatinas podem apresentar características de disfunções mitocondriais, como presença de “fibras rasgadas vermelhas” e presença de lipídeos em mitocôndrias. Alguns autores descrevem que, ao observarem a coloração Gomori modificado, há presença de acúmulo mitocondrial subsarcolemal e, em alguns casos, deficiência ou ausência de COX, característica que torna a fibra muscular uma “fibra fantasma”. Essa

deficiência/ausência faz com que haja uma alteração na cadeia respiratória mitocondrial, alterando o transporte de elétrons durante a fosforilação oxidativa (90-92). Porém estes estudos limitam-se a relatos de casos.

Na análise de MHC I, foi observado que o padrão analisado nas amostras basais com aumento leve, se manteve após o uso da medicação em pacientes com DM. Em SAS, verificou-se um aumento moderado do MHC tipo I nas amostras analisadas, que permaneceu após a intervenção. O MHC I é uma molécula apresentadora de antígenos essenciais na resposta imune adaptativa de células CD8 + T e CD4 + T. Em miopatias, Needham *et al.* mostraram que em biópsias musculares de 8 pacientes com miopatias desencadeada por uso de estatinas, houve regulação positiva difusa da expressão de MHC I em fibras necróticas e não necróticas, ocorrendo melhora em sete pacientes após iniciar o tratamento com glicocorticoide e metotrexato (52).

Em um estudo realizado por Guillaume Belliard *et al.* (93), mostrou que as estatinas modulam a expressão de MHC I de células endoteliais. Células endoteliais foram utilizadas com aumento das doses de fluvastatina com e sem IFN- $\gamma$ . os autores observaram que a fluvastatina é capaz de prevenir a indução de MHC II que é desencadeada por IFN- $\gamma$ , e também promover aumento de dose dependente e aumento da expressão de MHC I. Já outro estudo realizado por Kwak *et al.*, utilizando atorvastatina, pravastatina e lovastatina, mostraram que não houve diferença na expressão de MHC I (94).

Durante o estudo, observamos que houve diferença dos genes expressos nos grupos DM e SAS. Isso acontece pois, apesar de serem doenças pertencentes ao mesmo grupo, são heterogêneas. Há diferenças tanto na clínica, quanto na fisiopatogênese.

Como limitações, temos uma amostragem pequena, por se tratar de doenças raras, porém, realizamos o sequenciamento total do RNA e mostramos que não houve alterações significativas na expressão de genes das vias mitocondrial, fosforilação oxidativa, lipídica, insulínica e fibrogênese.

## **6. CONCLUSÕES**

A atorvastatina não promoveu alterações significativas da expressão de genes relacionados às vias mitocondrial, oxidativa, lipídica, insulínica, e de fibrogênese de tecidos musculares de pacientes com dislipidemia e com DM ou SAS. Não promoveu também alterações histológicas, histoquímicas assim como do MHC I dos tecidos musculares.

Esses resultados mostram que a atorvastatina é segura a nível molecular nos grupos avaliados no período de 12 semanas, porém são necessários mais estudos e com amostras maiores para melhor compreensão dos genes e vias estudadas.

## **7. REFERÊNCIAS**

1. Dalakas MC. Muscle biopsy findings in inflammatory myopathies. *Rheum Dis Clin North Am.* 2002;28:779-98.
2. Dalakas MC. Inflammatory muscle diseases. *N Engl J Med.* 2015;373:393-4.
3. Dalakas MC, Hohlfeld R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet.* 2003;362:971-82.
4. Shinjo SK. Miopatias autoimunes sistêmicas. *Rev Paul Reumatol.* 2017;6-11.
5. Greenberg SA. Inflammatory myopathies: evaluation and management. *Semin Neurol.* 2008;28:241-49.
6. Souza FH, Barros TB, Levy-Neto M, Shinjo SK. Adult dermatomyositis: experience of a Brazilian tertiary care center. *Rev Bras Reumatol.* 2012;52:897-902.
7. Engel AG, Arahata K. Mononuclear cells in myopathies: quantitation of functionally distinct subsets, recognition of antigen-specific cell-mediated cytotoxicity in some diseases, and implications for the pathogenesis of the different inflammatory myopathies. *Hum Pathol.* 1986;17:704-21.
8. Botet JC, Grau JM, Casademont J, Urbano-Marquez A, Rozman C. Characterization of mononuclear exudates in idiopathic inflammatory myopathies. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1988;412:371-74.
9. Dalakas MC. The future prospects in the classification, diagnosis and therapies of inflammatory myopathies: a view to the future from the "bench-to-bedside". *J Neurol.* 2004;251:651-57.
10. Emslie-Smith AM, Engel AG. Microvascular changes in early and advanced dermatomyositis: a quantitative study. *Ann Neurol.* 1990;27:343-56.
11. Goncalves FG, Chimelli L, Sallum AM, Marie SK, Kiss MH, Ferriani VP. Immunohistological analysis of CD59 and membrane attack complex of complement in muscle in juvenile dermatomyositis. *J Rheumatol.* 2002;29:1301-07.
12. Noss EH, Hausner-Sypek DL, Weinblatt ME. Rituximab as therapy for refractory polymyositis and dermatomyositis. *J Rheumatol.* 2006;33:1021-26.
13. Rigamonti E, Zordan P, Sciorati C, Rovere-Querini P, Brunelli S. Macrophage plasticity in skeletal muscle repair. *Biomed Res Int.* 2014;2014:560629.

14. Greenberg SA, Pinkus JL, Pinkus SP, Burleson T, Sanoudou D, Tawil R, et al. Interferon-alpha/beta-mediated innate immune mechanisms in dermatomyositis. *Ann Neurol.* 2005;57(5).
15. Walsh RJ, Kong SW, Yao Y, Jallal B, Kiener PA, Pinkus JL, et al. Type I interferon-inducible gene expression in blood is present and reflects disease activity in dermatomyositis and polymyositis. *Arthritis Rheumatism.* 2007;56:3784-92.
16. Baechler EC, Bauer JW, Slattery CA, Ortmann WA, Espe KJ, Novitzke J, et al. An interferon signature in the peripheral blood of dermatomyositis patients is associated with disease activity. *Mol Med.* 2007;13:59-68.
17. Wong D, Kea B, Pesich R, Higgs BW, Zhu W, Brown P, et al. Interferon and biologic signatures in dermatomyositis skin: specificity and heterogeneity across diseases. *PloS One.* 2012;7:e29161.
18. Muro Y, Sugiura K, Akiyama M. Cutaneous Manifestations in Dermatomyositis: Key Clinical and Serological Features-a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2016;51(3):293-302.
19. Connors GR, Christopher-Stine L, Oddis CV, Danoff SK. Interstitial lung disease associated with the idiopathic inflammatory myopathies: what progress has been made in the past 35 years? *Chest.* 2010;138(6):1464-74.
20. Nishikai M, Reichlin M. Heterogeneity of precipitating antibodies in polymyositis and dermatomyositis. Characterization of the Jo-1 antibody system. *Arthritis Rheum.* 1980;23(8):881-8.
21. Koenig M, Fritzler MJ, Targoff IN, Troyanov Y, Senécal JL. Heterogeneity of autoantibodies in 100 patients with autoimmune myositis: insights into clinical features and outcomes. *Arthritis Res Ther.* 2007;9(4):R78.
22. Mimori T, Imura Y, Nakashima R, Yoshifuji H. Autoantibodies in idiopathic inflammatory myopathy: an update on clinical and pathophysiological significance. *Curr Opin Rheumatol.* 2007;19(6):523-29.
23. Casciola-Rosen L, Nagaraju K, Plotz P, Wang K, Levine S, Gabrielson E, et al. Enhanced autoantigen expression in regenerating muscle cells in idiopathic inflammatory myopathy. *J Exp Med.* 2005;21;201(4):591-601.

24. Kanaji S, Chen W, Morodomi Y, Shapiro R, Kanaji T, Yang XL. Mechanistic perspectives on anti-aminoacyl-tRNA synthetase syndrome. *Trends Biochem Sci.* 2023;48(3):288-302.
25. da Silva LMB, Borges IBP, Shinjo SK. High prevalence of necrotising myopathy pattern in muscle biopsies of patients with anti-Jo-1 antisynthetase syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2023;41(2):238-46.
26. Lundberg IE, Tjärnlund A, Bottai M, Werth VP, Pilkington C, de Visser M, et al. 2017 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Adult and Juvenile Idiopathic Inflammatory Myopathies and Their Major Subgroups. *Arthritis Rheumatol.* 2017;69(12):2271-82.
27. Pinto GLB, Carboni RCdS, de Souza FHC, Shinjo SK. A prospective cross-sectional study of serum IL-17A in antisynthetase syndrome. *Clin Rheumatol.* 2020;39(9):2763-71.
28. de Moraes MT, de Souza FC, de Barros TB, Shinjo SK. Analysis of metabolic syndrome in adult dermatomyositis with a focus on cardiovascular disease. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2013;65(5):793-99.
29. de Souza FH, Shinjo SK. The high prevalence of metabolic syndrome in polymyositis. *Clin Exp Rheumatol.* 2014;32(1):82-7.
30. Silva MG, Borba EF, Mello SB, Shinjo SK. Serum adipocytokine profile and metabolic syndrome in young adult female dermatomyositis patients. *Clinics.* 2016;71(12):709-14.
31. Araujo PAO, Silva MG, Borba EF, Shinjo SK. High prevalence of metabolic syndrome in antisynthetase syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2018;36(2):241-47.
32. Alberti K, Zimmet PZ. Should we dump the metabolic syndrome? No. *BMJ.* 2008;22:336-641.
33. Grundy SM. Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28(4):629-36.
34. Sidiropoulos PI, Karvounaris SA, Boumpas DT. Metabolic syndrome in rheumatic diseases: epidemiology, pathophysiology, and clinical implications. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(3):207.



35. Nesto RW. The relation of insulin resistance syndromes to risk of cardiovascular disease. *Rev Cardiovasc Med*. 2003;4 Suppl 6:S11-8.
36. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009;120(16):1640-45.
37. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 2002;288(21):2709-16.
38. Raouf J, Idborg H, Englund P, Alexanderson H, Dastmalchi M, Jakobsson PJ, et al. Targeted lipidomics analysis identified altered serum lipid profiles in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Arthritis Res Ther*. 2018;20(1):83.
39. Kozu KT, Silva CA, Bonfa E, Sallum AM, Pereira RM, Viana VS, et al. Dyslipidaemia in juvenile dermatomyositis: the role of disease activity. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31(4):638-44.
40. Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D, et al. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: The MIRACL Study: A randomized controlled trial. *JAMA*. 2001;285(13):1711-8.
41. Davidson MH, Toth PP. Comparative effects of lipid-lowering therapies. *Prog Cardiovasc Dis*. 2004;47(2):73-104.
42. Padala S, Thompson PD. Statins as a possible cause of inflammatory and necrotizing myopathies. *Atherosclerosis*. 2012;222(1):15-21.
43. Schalke BB, Schmidt B, Toyka K, Hartung HP. Pravastatin-associated inflammatory myopathy. *N Engl J Med*. 1992;327(9):649-50.
44. Khattak FH, Morris IM, Branford WA. Simvastatin-associated dermatomyositis. *Br J Rheumatol*. 1994;33(2):199.
45. Hill C, Zeitz C, Kirkham B. Dermatomyositis with lung involvement in a patient treated with simvastatin. *Aust N Z J Med*. 1995;25(6):745-46.

46. Giordano N, Senesi M, Mattii G, Battisti E, Villanova M, Gennari C. Polymyositis associated with simvastatin. *Lancet*. 1997;349:1600-1.
47. Noel B, Cerottini JP, Panizzon RG. Atorvastatin-induced dermatomyositis. *Am J Med*. United States. 2001;110(8):670-1.
48. Fauchais AL, Iba Ba J, Maurage P, Kyndt X, Bataille D, Hachulla E, et al. [Polymyositis induced or associated with lipid-lowering drugs: five cases]. *Rev Med Interne*. 2004;25(4):294-8.
49. Takagi A, Shiio Y. [Pravastatin-associated polymyositis, a case report]. *Rinsho Shinkeigaku*. 2004;44(1):25-7.
50. Vasconcelos OM, Campbell WW. Dermatomyositis-like syndrome and HMG-CoA reductase inhibitor (statin) intake. *Muscle Nerve*. 2004;30(6):803-7.
51. Thual N, Penven K, Chevallier JM, Domp Martin A, Leroy D. [Fluvastatin-induced dermatomyositis]. *Ann Dermatol Venerol*. 2005;132(12 Pt 1):996-9.
52. Needham M, Fabian V, Knezevic W, Panegyres P, Zilko P, Mastaglia FL. Progressive myopathy with up-regulation of MHC-I associated with statin therapy. *Neuromuscul Disord*. 2007;17(2):194-200.
53. Sailler L, Pereira C, Bagheri A, Uro-Coste E, Roussel B, Adoue D, et al. Increased exposure to statins in patients developing chronic muscle diseases: a 2-year retrospective study. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(5):614-9.
54. Borges IBP, Silva MG, Misse RG, Shinjo SK. Lipid-lowering agent-triggered dermatomyositis and polymyositis: a case series and literature review. *Rheumatol Int*. 2018;38(2):293-301.
55. Christopher-Stine L, Casciola-Rosen LA, Hong G, Chung T, Corse AM, Mammen AL. A novel autoantibody recognizing 200-kd and 100-kd proteins is associated with an immune-mediated necrotizing myopathy. *Arthritis Rheum*. 2010;62(9):2757-66.
56. Mammen AL, Chung T, Christopher-Stine L, Rosen P, Rosen A, Doering KR, et al. Autoantibodies against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in patients with statin-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum*. 2011;63(3):713-21.
57. Werner JL, Christopher-Stine L, Ghazarian SR, Pak KS, Kus JE, Daya NR, et al. Antibody levels correlate with creatine kinase levels and strength in anti-

- HMG-CoA reductase-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum.* 2012;64(12):4087-93.
58. Borges IBP, Shinjo SK. Safety of statin drugs in patients with dyslipidemia and stable systemic autoimmune myopathies. *Rheumatol Int.* 2019;39(2):311-6.
  59. Bruckert E, Hayem G, Dejager S, Yau C, Bégaud B. Mild to moderate muscular symptoms with high-dosage statin therapy in hyperlipidemic patients--the PRIMO study. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2005;19(6):403-14.
  60. Marcoff L, Thompson PD. The role of coenzyme Q10 in statin-associated myopathy: a systematic review. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49(23):2231-7.
  61. Kaufmann P, Torok M, Zahno A, Waldhauser KM, Brecht K, Krahenbuhl S. Toxicity of statins on rat skeletal muscle mitochondria. *Cell Mol Life Sci.* 2006;63(19-20):2415-25.
  62. Sirvent P, Mercier J, Vassort G, Lacampagne A. Simvastatin triggers mitochondria-induced Ca<sup>2+</sup> signaling alteration in skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;329(3):1067-75.
  63. Hanai J, Cao P, Tanksale P, Imamura S, Koshimizu E, Zhao J, et al. The muscle-specific ubiquitin ligase atrogin-1/MAFbx mediates statin-induced muscle toxicity. *J Clin Invest.* 2007;117(12):3940-51.
  64. Preiss D, Seshasai SR, Welsh P, Murphy SA, Ho JE, Waters DD, et al. Risk of incident diabetes with intensive-dose compared with moderate-dose statin therapy: a meta-analysis. *JAMA.* 2011;305(24):2556-64.
  65. Shah RV, Goldfine AB. Statins and risk of new-onset diabetes mellitus. *Circulation. United States.* 2012;30;126(18):e282-4.
  66. Zafrir B, Jain M. Lipid-lowering therapies, glucose control and incident diabetes: evidence, mechanisms and clinical implications. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2014;28(4):361-77.
  67. Sivitz WI, Yorek MA. Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal.* 2010;12(4):537-77.
  68. Ridker PM, Pradhan A, MacFadyen JG, Libby P, Glynn RJ. Cardiovascular benefits and diabetes risks of statin therapy in primary prevention: an analysis from the JUPITER trial. *Lancet.* 2012;380(9841):565-71.

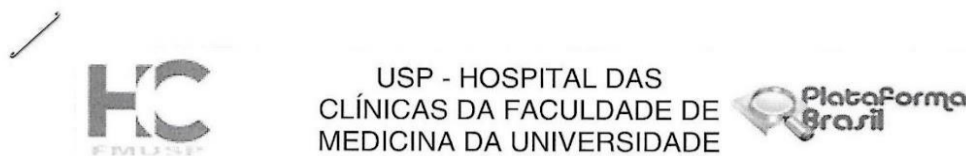
69. Koh KK, Quon MJ, Han SH, Lee Y, Kim SJ, Shin EK. Atorvastatin causes insulin resistance and increases ambient glycemia in hypercholesterolemic patients. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(12):1209-16.
70. Zong M, Lundberg IE. Pathogenesis, classification and treatment of inflammatory myopathies. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(5):297-306.
71. Singh P, Kohr D, Kaps M, Blaes F. Influence of statins on MHC class I expression. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1173:746-51
72. Borges IBP, de Oliveira DS, Misse RG, Dos Santos AM, Hong VAC, Bortolotto LA, et al. Safety of Atorvastatin in Patients With Stable Systemic Autoimmune Myopathies: A Pilot Prospective Study. *J Clin Rheumatol*. 2020;27(6S):S236-S241.
73. Miller FW, Rider LG, Chung YL, Cooper R, Danko K, Farewell V, et al. Proposed preliminary core set measures for disease outcome assessment in adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Rheumatology (Oxford)*. 2001;40(11):1262-73.
74. Rider LG, Giannini EH, Harris-Love M, Joe G, Isenberg D, Pilkington C, et al. Defining clinical improvement in adult and juvenile myositis. *J Rheumatol*. 2003;30(3):603-17.
75. Harris-Love MO, Shrader JA, Koziol D, Pahlajani N, Jain M, Smith M, et al. Distribution and severity of weakness among patients with polymyositis, dermatomyositis and juvenile dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48(2):134-9.
76. Linke A, Möbius-Winkler S, Hambrecht R. [Exercise training in the treatment of coronary artery disease and obesity]. *Herz*. 2006;31(3):224-33.
77. Matsudo S, Araújo T, Matsudo V, Andrade D, Andrade E, Oliveira LC, et al. Questionário internacional de atividade física (IPAQ): Estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. *Rev Bras Ativ Fís Saúde*. 2012;6(2):5-18.
78. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.
79. Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S, et al. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*. 2013;29(1):15-21.

80. Li B, Dewey CN. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC Bioinformatics*. 2011;12:323.
81. Liao Y, Smyth GK, Shi W. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics*. 2014;30(7):923-30.
82. Bouitbir J, Charles AL, Echaniz-Laguna A, Kindo M, Daussin F, Auwerx J, et al. Opposite effects of statins on mitochondria of cardiac and skeletal muscles: a 'mitohormesis' mechanism involving reactive oxygen species and PGC-1. *Eur Heart J*. 2012;33(11):1397-407.
83. Sirvent P, Mercier J, Lacampagne A. New insights into mechanisms of statin-associated myotoxicity. *Curr Opin Pharmacol*. 2008;(3):333-8.
84. Liu X, Zhang W, Zhao M, Jia G, Sun R. Effect of atorvastatin treatment on circulating adiponectin: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Lipids Health Dis*. 2019;18(1):228.
85. Kosaki A, Hasegawa T, Kimura T, Iida K, Hitomi J, Matsubara H, et al. Increased plasma S100A12 (EN-RAGE) levels in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(11):5423-8.
86. Foell D, Kane D, Bresnihan B, Vogl T, Nacken W, Sorg C, et al. Expression of the pro-inflammatory protein S100A12 (EN-RAGE) in rheumatoid and psoriatic arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2003;42(11):1383-9.
87. Gawdzik J, Mathew L, Kim G, Puri TS, Hofmann Bowman MA. Vascular remodeling and arterial calcification are directly mediated by S100A12 (EN-RAGE) in chronic kidney disease. *Am J Nephrol*. 2011;33(3):250-9.
88. Takaguri A, Satoh K, Itagaki M, Tokumitsu Y, Ichihara K. Effects of atorvastatin and pravastatin on signal transduction related to glucose uptake in 3T3L1 adipocytes. *J Pharmacol Sci*. 2008;107(1):80-9.
89. Paseban M, Butlwe AE, Sahebkar A. Mechanisms of statin-induced new-onset diabetes. *J Cell Physiol*. 2019;234(8):12551-61.
90. Phillips PS, Haas RH, Bannykh S, Hathaway S, Gray NL, Kimura BJ, et al. Statin-associated myopathy with normal creatine kinase levels. *Ann Intern Med*. 2002;137(7):581-5.

91. Arenas J, Fernández-Moreno MA, Molina JA, Fernández V, Hoyo Pd, Campos Y, et al. Myoglobinuria and COX deficiency in a patient taking cerivastatin and gemfibrozil. *Neurology*. 2003;14;60:124-6.
92. Kuncova K, Sedlackova M, Vencovsky J, Mann H, Tomcik M, Wenchich L, et al. Inflammatory myopathy associated with statins: report of three cases. *Mod Rheumatol*. 2014;24(2):366-71.
93. Belliard G, Coupel S, Charreau B. Effet de la fluvastatine sur l'expression du CMH de classe I par les cellules endothéliales humaines [Fluvastatin affects HLA class I expression on endothelial cells]. *Nephrol Ther*. 2005;1(4):221-7.
94. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med*. 2000;6(12):1399-402.

## **8. ANEXOS**

## 8.1. ANEXO 1



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** Impacto do uso de hipolipemiantes em pacientes com dermatomiosite e polimiosite

**Pesquisador:** Samuel Katsuyuki Shinjo

**Área Temática:**

**Versão:** 5

**CAAE:** 33558414.7.0000.0068

**Instituição Proponente:** HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

**Patrocinador Principal:** FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO  
HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.903.905

**Apresentação do Projeto:**

A Emenda propõe a realização de biópsias musculares pré e pós-protocolo, com posterior análise histológica, histoquímica e molecular. Com a justificativa de que as informações permitirão melhor compreensão do possível mecanismo histológico e molecular de toxicidade de hipolipemiantes nos músculos esqueléticos de pacientes com DM/PM.

**Objetivo da Pesquisa:**

Os objetivos primários não se modificaram: Principais: 1)Avaliar o impacto do uso de hipolipemiantes na rigidez vascular e na função endotelial de pacientes com dermatomiosite e polimiosite; 2)Avaliar o impacto do uso de hipolipemiantes em pacientes com dermatomiosite e polimiosite; Foi acrescentado nos objetivos secundários: 4)Avaliar o resultado dos hipolipemiantes em pacientes com dermatomiosite e polimiosite no metabolismo lipídico e inflamatório de músculos esqueléticos;

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

No que se refere aos riscos, foi acrescentado o risco da biópsia: Quanto à biópsia muscular, poderá sentir um desconforto leve como dor e inchaço local. Os benefícios não se alteram.

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

**Bairro:** Cerqueira Cesar

**CEP:** 05.403-010

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)2661-7585

**Fax:** (11)2661-7585

**E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br





USP - HOSPITAL DAS  
CLÍNICAS DA FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 1.903.905

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A emenda é exclusiva de seu Centro Coordenador, então as alterações realizadas em seu projeto, em virtude da emenda, NÃO serão replicadas nos Centros Participantes vinculados e nos Comitês de Ética das Instituições Coparticipantes, quando da sua aprovação.

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

Estão adequados.

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

ao Projeto inicial foram acrescentados os itens referentes à biópsia muscular em todas as partes (Introdução e métodos do projeto e no TCLE)

**Considerações Finais a critério do CEP:**

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

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_825765_E3.pdf	12/11/2016 22:01:23		Aceito
Brochura Pesquisa	Anexo.pdf	12/11/2016 21:59:24	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.doc	12/11/2016 21:58:09	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	12/11/2016 21:57:32	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Brochura Pesquisa	Brochura.pdf	16/09/2016 16:42:16	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Brochura Pesquisa	Brochuras.pdf	05/02/2015 19:19:18		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta de Anuência.pdf	05/02/2015 18:36:16		Aceito
Outros	Carta (Esclarecimentos).pdf	29/01/2015 10:04:12		Aceito
Outros	Resposta ao Parecer.pdf	09/08/2014 16:45:35		Aceito
Outros	Anexo II.pdf	15/07/2014 12:01:58		Aceito
Folha de Rosto	Folha de Rosto.pdf	10/07/2014 20:07:30		Aceito

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

**Bairro:** Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010

**UF:** SP **Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS  
CLÍNICAS DA FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 1.903.905

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO PAULO, 01 de Fevereiro de 2017

Assinado por:

**ALFREDO JOSE MANSUR**  
(Coordenador)

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

**Bairro:** Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010

**UF:** SP **Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

## 8.2. ANEXO 2

Trabalhos publicados durante o período de Doutorado

Arch Rheumatol 2023;38(x):i-xi  
doi: 10.46497/ArchRheumatol.2023.9257

ORIGINAL ARTICLE

## Exercise training attenuates skeletal muscle fat infiltration and improves insulin pathway of patients with immune-mediated necrotizing myopathies and dermatomyositis

Diego Sales de Oliveira<sup>1</sup>, Isabela Bruna Pires Borges<sup>1</sup>, Suely Kazue Nagahashi Marie<sup>2</sup>,  
Antonio Marcondes Lerario<sup>3</sup>, Sueli Mieko Oba-Shinjo<sup>2</sup>, Samuel Katsuyuki Shinjo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Rheumatology, Laboratory of Inflammatory Myopathies, Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de Sao Paulo, Brazil

<sup>2</sup>Department of Neurology, Laboratory of Molecular and Cellular Biology, Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de Sao Paulo, Brazil

<sup>3</sup>Department of Internal Medicine, Division of Metabolism, Endocrinology and Diabetes, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA

► Clin Exp Rheumatol. 2022 Oct 11. doi: 10.55563/clinexprheumatol/zq7x68. Online ahead of print.

## High prevalence of necrotising myopathy pattern in muscle biopsies of patients with anti-Jo-1 antisynthetase syndrome

Lila M B Silva<sup>1</sup>, Isabela B P Borges<sup>1</sup>, Samuel K Shinjo<sup>2</sup>

Affiliations + expand

PMID: 36226626 DOI: 10.55563/clinexprheumatol/zq7x68



Original Article | Published: 11 July 2022

## High prevalence of necrotizing myofibers in adult dermatomyositis muscle biopsies

Aline Marques Caetano, Isabela Bruna Pires Borges, Lila Morena Bueno da Silva & Samuel Katsuyuki Shinjo



Clinical Rheumatology 41, 3411–3417 (2022) | Cite this article

100 Accesses | Metrics

## ORIGINAL ARTICLES

# Exercise Training Attenuates Ubiquitin-Proteasome Pathway and Increases the Genes Related to Autophagy on the Skeletal Muscle of Patients With Inflammatory Myopathies

Borges, Isabela Bruna Pires MSc<sup>\*</sup>; de Oliveira, Diego Sales PhD<sup>\*</sup>; Marie, Suely Kazue Nagahashi MD, PhD<sup>†</sup>; Lenario, Antonio Marcondes MD, PhD<sup>‡</sup>; Oba-Shinjo, Sueli Miekko PhD<sup>†</sup>; Shinjo, Samuel Katsuyuki MD, PhD<sup>\*</sup>

Author Information 


JCR: Journal of Clinical Rheumatology: September 2021 - Volume 27 - Issue 6S - p S224-S231

doi: 10.1097/RHU.0000000000001721

BUY

 Metrics

## IJRD Editorial Office

para mim, isapires25, suelinoba, amlerario, sknmarie 

International Journal of Rheumatic Diseases is indexed by ISI(SCI-E) and MEDLINE!

22-Aug-2023

Dear Professor Shinjo:

Your manuscript entitled "Effect of atorvastatin on muscle tissues of dermatomyositis and antisynthetase syndrome patients with dyslipidemia" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the International Journal of Rheumatic Diseases.

Your manuscript ID is IJRD-2023-1104.

Our journal is currently transitioning to Wiley's Research Exchange submission portal.

If you submitted this manuscript through our Research Exchange site, you can view the status of your manuscript by logging into the submission site at <http://wiley.atyponrex.com/journal/APL>.

If you submitted this manuscript through ScholarOne, you can view the status of your manuscript by checking your Author Center after logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/aplar>.

This journal offers a number of license options for published papers; information about this is available here <https://authorservices.wiley.com/author-resources/journal-authors/licensing/index.html>. The submitting author has confirmed that all co-authors have the necessary rights to grant in the submission, including in light of each co-author's funder policies. If any author's funder has a policy that restricts which kinds of license they can sign, for example if the funder is a member of Coalition S, please make sure the submitting author is aware.

Thank you for submitting your manuscript to the International Journal of Rheumatic Diseases.

Sincerely,

International Journal of Rheumatic Diseases Editorial Office

ter., 22 de ago., 05:11 (há 2 dias)   