

DIEGO SALES DE OLIVEIRA

**Efeitos do treinamento físico no conteúdo lipídico na
resistência à ação da insulina do músculo esquelético de
pacientes com miopatias autoimunes sistêmicas**

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

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo

(Versão corrigida. Resolução CoPGr nº 6018, de 13 de outubro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2020

DIEGO SALES DE OLIVEIRA

**Efeitos do treinamento físico no conteúdo lipídico na
resistência à ação da insulina do músculo esquelético de
pacientes com miopatias autoimunes sistêmicas**

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

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo

(Versão corrigida. Resolução CoPGr nº 6018, de 13 de outubro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Oliveira, Diego Sales de

Efeitos do treinamento físico no conteúdo lipídico
na resistência à ação da insulina do músculo
esquelético de pacientes com miopatias autoimunes
sistêmicas / Diego Sales de Oliveira. -- São Paulo,
2020.

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

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético.

Orientador: Samuel Katsuyuki Shinjo.

Descritores: 1.Exercício físico 2.Lípideos 3.Doenças
musculares 4.Doenças autoimunes 5.Miosite
6.Resistência à insulina

USP/FM/DBD-134/20

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Ao meu pai,

Elio Sales de Oliveira, onde quer que esteja.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, por ter me dado forças para acordar cedo todos os dias, enfrentar trens lotados, cansaço físico e mental, e ainda assim, ter a vontade de fazer tudo de novo se fosse preciso.

Agradeço ao meu pai **Elio Sales de Oliveira** (*in memoriam*) por tudo que lutou e trabalhou em vida para que eu pudesse hoje fazer tudo o que eu quisesse. A minha mãe, **Marli Soares Lima**, pelo esforço e trabalho exaustivo que tem de estar sempre pronta para apoiar em todas as minhas decisões e me dar suporte para tudo o que faço.

Agradeço imensamente e de forma que nunca será suficiente, ao **Prof. Dr. Luiz Perandini**, ao qual tive o imenso prazer de conhecer na faculdade e que me deu a oportunidade de entrar para o mundo da pesquisa e docência. Se um dia eu for metade da pessoa e professor ao qual você é, estarei honrando tudo aquilo ao qual você batalha para a melhora da nossa profissão.

Agradeço ao meu orientador **Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo**, por tudo suporte, pelos “puxões de orelha” quando necessário e pela confiança e oportunidades que me foram dadas desde a época do mestrado.

Agradeço a todo o pessoal do laboratório de miopatias. Agradeço a **Isabela Bruna Pires Borges**, pessoa que me ajudou em todo projeto e trabalhou ao meu lado durante todo o processo do doutorado, sempre prestativa para tudo que eu precisei. Tenha certeza que sem você esse projeto não seria possível. Agradeço ao **Rafael Giovani Misse**, **Alexandre Moura dos Santos**, **Letícia Alves Perin** e **Jean Marcos de Souza** por todo o auxílio que me deram para a realização desse projeto. Vocês todos foram essenciais para que ele fosse finalizado.

Agradeço a **Profª. Drª. Patrícia Chakur Brum** e **Profª. Drª. Cláudia Forjaz**, que me aceitaram para o estágio PAE e contribuíram de forma ímpar para minha formação profissional e docente. Espero um dia poder retribuir tudo que aprendi com vocês passando esse conhecimento a outros futuros profissionais de educação física.

Agradecer imensamente a todos os pacientes do ambulatório de miopatias que aceitaram participar do projeto, pois sem elas nada disso teria acontecido. Além disso, agradeço todos os participantes do grupo controle que dispuseram do seu tempo para poder participar desse projeto.

Por fim, agradeço a *Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - 2016/19771-5)* pelo financiamento desse projeto.

Não se preocupe, não se preocupe, criança

Veja, o céu tem um plano pra você.

Swedish House Mafia

SUMÁRIO

Abreviações.....	I
Lista de Figuras.....	IV
Lista de Tabelas.....	VI
Resumo.....	VII
Abstract.....	IX
1. Introdução.....	1
2. Revisão da literatura.....	4
2.1. Miopatias autoimunes sistêmicas.....	5
2.1.2. Dermatomiosite.....	5
2.1.3. Polimiosite.....	6
2.1.4. Síndrome antissintetase.....	7
2.2. Tratamento.....	7
2.3. Comorbidades.....	8
2.4. Resistência à ação da insulina.....	8
2.5. Infiltração de lipídios no músculo esquelético.....	12
2.6. Efeitos do exercício físico na resistência insulínica e na infiltração de lipídios no músculo esquelético.....	14
3. Objetivos.....	17
3.1. Objetivos primários.....	18
3.2. Objetivos secundários.....	18
4. Metodologia.....	19
4.1. Desenho do estudo e casuística.....	20
4.2. Avaliações do estudo.....	22
4.3. Evolução clínica e <i>status</i> atual da doença.....	23
4.4. Avaliação cardiorrespiratória.....	23
4.5. Avaliação da força muscular.....	25
4.6. Testes funcionais.....	25
4.7. Exames laboratoriais.....	25
4.8. Avaliação da resistência à ação da insulina.....	25
4.9. Composição corporal.....	26
4.10. Biópsia muscular por agulha de sucção.....	26

4.11. Análise histológica do músculo esquelético.....	27
4.12. Sequenciamento gênico em larga escala do músculo esquelético (RNA-seq).....	27
4.13. Treinamento físico.....	28
4.14. Análise estatística.....	29
5. Resultados.....	30
5.1. Características dos pacientes e do grupo controle.....	31
5.2. Avaliação dos parâmetros de resistência insulínica e de células beta pancreáticas dos pacientes do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	33
5.3. Avaliação da potência aeróbia dos pacientes do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	36
5.4. Avaliação da força e função muscular dos pacientes do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	36
5.5. Avaliação da área de secção transversal e proporção dos tipos de fibra I e tipo de fibra II entre o grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	37
5.6. Avaliação e comparação do conteúdo lipídico intramuscular de fibras musculares do tipo I e do tipo II no grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	38
5.7. Treinamento físico.....	40
5.7.1. Características dos pacientes.....	40
5.7.2. Efeitos do treinamento físico na potência aeróbia dos pacientes com miopatias autoimunes sistêmicas.....	41
5.7.3. Efeitos do treinamento físico na força e função muscular dos pacientes com miopatias autoimunes sistêmicas.....	42
5.7.4. Efeitos do treinamento físico nos parâmetros de resistência insulínica e disfunção de células beta pancreáticas nos pacientes com miopatias autoimunes sistêmicas.....	43
5.7.5. Efeitos do treinamento físico na área de secção transversal e na proporção dos tipos de fibra I e tipo de fibra II.....	45
5.7.6. Efeitos do treinamento físico no conteúdo lipídico intramuscular de fibras musculares do tipo I e do tipo II.....	47
5.7.7. Análise da expressão gênica do músculo esquelético antes e após o programa de treinamento físico.....	48

6. Discussão.....	56
7. Conclusões.....	69
8. Referências.....	71
9. Anexos.....	86
9.1. Aprovação do projeto de pesquisa.....	86
9.2. Questionários.....	89
9.3. Artigos publicados.....	92

ABREVIACÕES

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
AKT	<i>Protein kinase B</i>
ALT	<i>Alanina aminotransferase</i>
AMPK	<i>AMP-activated protein kinase</i>
AMPKβ2	<i>AMP-activated protein kinase beta 2</i>
AS160	<i>AKT substrate of 160 kDa</i>
AST	<i>Aspartato aminotransferase</i>
ATG4D	<i>Autophagy related 4D cysteine peptidase</i>
AUC	<i>Área abaixo da curva</i>
CaMK	<i>Ca²⁺ / calmodulin-dependent protein kinase</i>
CEBPα	<i>CCAAT / enhancer-binding protein alpha</i>
CPK	<i>Creatinofosfoquinase</i>
CTRL	<i>Grupo controle</i>
DHL	<i>Desidrogenase láctica</i>
DM	<i>Dermatomiosite</i>
DXA	<i>Densitometria óssea</i>
EI24	<i>Etoposide-induced protein 2.4</i>
EPG5	<i>Ectopic P-granules autophagy protein 5 homolog</i>
ES	<i>Effect size</i>
EULAR	<i>European League Against Rheumatism</i>
EVA	<i>Escala visual analógica</i>
FABP4	<i>Fatty acid-binding protein 4</i>
FOXO-1	<i>Forkhead box protein O1</i>
GLUT-4	<i>Glucose transporter-4</i>
GSTP1	<i>Glutathione S-transferase pi 1</i>
GSTZ1	<i>Glutathione S-transferase zeta 1</i>
H&E	<i>Hematoxilina-eosina</i>
HAQ	<i>Health Assessment Questionnaire</i>
HDL	<i>Lipoproteína de alta densidade</i>
HERC1	<i>HECT and RLD domain containing E3 ubiquitin protein ligase family member 1</i>
HOMA	<i>Modelo de avaliação da homeostase</i>
IDH2	<i>Isocitrate dehydrogenase 2</i>
IMACS	<i>International Myositis Assessment & Clinical Studies Group</i>
IMC	<i>Índice de massa corporal</i>

INSR	<i>Insulin receptor</i>
IRS	<i>Insulin receptor soluble</i>
LAMP	<i>Lysosomal-associated membrane protein</i>
LAV	Limiar anaeróbio ventilatório
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MAS	Miopatias autoimunes sistêmicas
MFN	<i>Mitofusin</i>
MMT	<i>Manual Muscle Testing</i>
MTORC2	<i>mTOR complex 2</i>
MYOACT	<i>Myositis Disease Activity Assessment Visual Analog Scales</i>
ORO	<i>Oil red O</i>
PCR	Ponto de compensação respiratória
PDGFR-α	<i>Platelet-derived growth factor receptor alfa</i>
PDK1	<i>3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1</i>
PGC1-α	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha</i>
PI3K	<i>Phosphoinositide 3-kinases</i>
PIP2	<i>Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate</i>
PIP3	<i>Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate</i>
PKC	<i>Protein kinase C</i>
PM	Polimiosite
PPAR-γ	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i>
PSMC3	<i>26S protease regulatory subunit 6A</i>
PSMD	<i>26S proteasome non-ATPase regulatory</i>
PSMF1	<i>Proteasome inhibitor subunit 1</i>
RAB	<i>Ras-related protein Rab</i>
RAC1	<i>Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1</i>
RI	Resistência à ação da insulina
RM	Repetição máxima
RNA-seq	Sequenciamento de RNA
RPN2	<i>Ribophorin II</i>
SAS	Síndrome antissintetase
TBC1D1	<i>TBC1 domain family member 1</i>
TFAM	<i>Mitochondrial transcription factor A</i>
TFEB	<i>Transcription factor EB</i>
TNF-α	<i>Tumor necrosis factor alfa</i>
TOTG	Teste oral de tolerância à glicose
UBE2EI	<i>Ubiquitin-conjugating enzyme E2EI</i>

ULK	<i>Unc-51 like autophagy activating kinase 1</i>
USP	<i>Ubiquitin specific peptidase 13</i>
VO₂	Consumo máximo de oxigênio
WIP12	<i>WD repeat domain phosphoinositide-interacting protein 2</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Sinalização da via insulínica.....	10
Figura 2 -	Desenho do estudo.....	21
Figura 3 -	Fluxograma dos pacientes.....	31
Figura 4 -	Curvas de glicose, insulina e peptídeo-C em resposta ao teste oral de tolerância a glicose do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	35
Figura 5 -	Tipologia de fibras do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	37
Figura 6 -	Análise quantitativa da área de secção transversal (A) e da proporção dos tipos de fibras musculares (B) do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	38
Figura 7 -	Conteúdo lipídico intramuscular nas fibras musculares do tipo I e do tipo II do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	39
Figura 8 -	Análise quantitativa do conteúdo lipídico dos pacientes com miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	39
Figura 9 -	Curvas de glicose, insulina e peptídeo-C em resposta ao teste oral de tolerância a glicose antes e após o treinamento físico.....	45
Figura 10 -	Análise quantitativa da área de secção transversal (A) e da proporção dos tipos de fibras musculares (B) do grupo miopatias autoimunes sistêmicas antes e após o treinamento físico.....	46
Figura 11 -	Conteúdo lipídico intramuscular nas fibras musculares do tipo I e do tipo II dos pacientes antes e após o treinamento físico.....	47
Figura 12 -	Análise quantitativa do conteúdo lipídico nas fibras do tipo I e do tipo II antes e após o treinamento físico.....	48
Figura 13 -	Análise da expressão de genes (RNA-seq) relacionados à via de insulina e oxidação lipídica.....	50
Figura 14 -	<i>Heat map</i> dos genes da via de insulina e oxidação lipídica.....	51
Figura 15 -	Análise da expressão de genes (RNA-seq) relacionados a via de autofagia, biogênese lisossomal e fusão mitocondrial.....	52

Figura 16 - Análise da expressão de genes (RNA-seq) relacionados a via da ubiquitina-proteassoma.....	53
Figura 17 - Análise da expressão de genes (RNA-seq) relacionados à capacidade antioxidante.....	54
Figura 18 - <i>Heat map</i> dos genes relacionados a autofagia, via da ubiquitina-proteassoma e antioxidantes.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características, <i>status</i> da doença e medicações dos pacientes e do grupo controle no início do estudo.....	32
Tabela 2 -	Parâmetros laboratoriais e composição corporal do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle no início do estudo.....	33
Tabela 3 -	Glicemia, insulinemia, peptídeo-C basal e parâmetros de resistência insulínica e de função das células beta pancreáticas do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	34
Tabela 4 -	Potência aeróbia do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	36
Tabela 5 -	Força e função muscular do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle.....	39
Tabela 6 -	Características, status da doença, e medicações dos pacientes submetidos ao programa de treinamento físico.....	40
Tabela 7 -	Parâmetros laboratoriais e composição corporal dos pacientes submetidos ao programa de treinamento físico.....	41
Tabela 8 -	Potência aeróbia antes e após o programa de treinamento físico.....	42
Tabela 9 -	Força e função muscular dos pacientes submetidos ao programa de treinamento físico.....	43
Tabela 10 -	Glicemia, insulinemia, peptídeo-C basal e parâmetros de resistência insulínica e de função das células beta antes e após o programa de treinamento físico.....	44

RESUMO

Oliveira DS. *Efeitos do treinamento físico no conteúdo lipídico e na resistência à ação da insulina do músculo esquelético de pacientes com miopatias autoimunes sistêmicas* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2020.

Introdução: As miopatias autoimunes sistêmicas (MAS) são um grupo de doenças musculares raras que afetam a musculatura esquelética. Pacientes com MAS apresentam importante fraqueza muscular proximal e progressiva como consequência da doença. Pacientes com MAS cursam com diversas comorbidades, como hipertensão arterial sistêmica, obesidade, diabetes mellitus, dislipidemias e, consequentemente, síndrome metabólica. A resistência à ação da insulina (RI) desempenha um papel central no aparecimento da síndrome metabólica. Diversos fatores contribuem para a causa da RI, sendo que a infiltração de lipídios no músculo esquelético parece ser uma das principais responsáveis em seu desenvolvimento. Assim como os prejuízos metabólicos, a infiltração de lipídios no músculo esquelético contribui para a diminuição da atividade contrátil do músculo esquelético, prejudicando sua funcionalidade. O treinamento físico tem sido uma importante ferramenta na reabilitação da força e função muscular de pacientes com MAS. Contudo, até o presente momento, nenhum estudo avaliou o efeito do treinamento físico na RI, bem como na infiltração de lipídios do músculo esquelético desses pacientes. **Objetivos:** Avaliar os efeitos do treinamento físico nos parâmetros de RI e no conteúdo lipídico do músculo esquelético de pacientes com MAS. **Métodos:** Nove pacientes com diagnóstico de MAS (grupo MAS: seis com dermatomiosite (DM), dois com síndrome antissintetase (SAS) e um com polimiosite (PM)) e dez voluntários controles saudáveis (grupo CTRL) pareados por sexo, idade e índice de massa corporal, participaram do presente estudo. De ambos os grupos foram avaliados e comparados os seguintes parâmetros: potência aeróbia (através do teste ergoespirométrico), força e função muscular (através dos testes de uma repetição máxima, teste de sentar e levantar e levantar e caminhar), composição corporal (através da densitometria óssea), RI (através do teste oral de tolerância a glicose (TOTG), modelo de avaliação de homeostase (índice HOMA), e índice Matsuda), biópsia muscular (para posterior análise da tipologia de fibras musculares (ATPases ácida e básica)), avaliação do conteúdo lipídico do músculo esquelético (pela marcação de *Oil Red O*) e avaliação da expressão gênica (pelo sequenciamento do rna mensageiro (RNA-seq)). Após as análises iniciais, os pacientes do grupo MAS foram submetidos a um programa de treinamento físico, composto por exercícios aeróbios e de força, duas vezes por semana, pelo período de 12 semanas. Após a intervenção, todas as análises iniciais foram refeitas. **Resultados:** Os pacientes do grupo MAS apresentavam uma remissão clínica da doença de acordo com os dados do IMACS. Os pacientes do grupo MAS apresentaram uma menor potência aeróbia, força e função muscular quando comparado aos indivíduos controles. Também apresentaram uma menor área de secção transversal de fibras do tipo I e fibras do tipo II, quando comparado ao grupo CTRL. Além disso, os pacientes do grupo MAS apresentavam uma maior proporção de fibras do tipo II, e menor proporção de fibras do tipo I comparado ao grupo CTRL. Não foram encontradas diferenças significativas nos parâmetros de RI e de células beta pancreáticas entre o grupo MAS e grupo CTRL. Em relação ao conteúdo lipídico, o grupo MAS apresentava um maior conteúdo de lipídios nas fibras musculares do tipo II quando comparado ao grupo CTRL. Em resposta ao treinamento físico, o grupo MAS apresentou uma melhora significativa na potência aeróbia, força e função muscular, composição corporal, assim como nos parâmetros de RI e função de células beta pancreáticas. Após o treinamento físico, houve um aumento significativo na área de secção transversal e na proporção de fibras musculares do tipo I. Após o treinamento físico, houve uma diminuição significativa ao conteúdo lipídico das fibras musculares do tipo I e do tipo II. Por fim houve um aumento na expressão de genes relacionados a via insulínica,

VIII

oxidação lipídica, autofagia e capacidade antioxidante, enquanto genes relacionados a via da ubiquitina proteassoma diminuíram com o treinamento. **Conclusões:** O treinamento físico foi uma ferramenta eficaz em melhorar a sensibilidade à ação da insulina e a função de células beta pancreáticas nos pacientes com MAS. Além disso, o treinamento físico levou a um aumento no tamanho e na proporção de fibras do tipo I, além de diminuir o conteúdo lipídico intramuscular dos pacientes com MAS. Por fim, o treinamento modulou positivamente a expressão de genes da via insulínica, oxidação de lipídios, autofagia e capacidade antioxidante, além de diminuir genes relacionados a via da ubiquitina proteassoma. Dessa forma, o treinamento físico parece ser eficaz em contribuir para diminuição do risco cardiometabólico, além de melhorar a qualidade e funcionalidade muscular desses pacientes.

Descritores: Exercício físico; Lipídeos; Doenças musculares; Doenças autoimunes; Miosite; Resistência à insulina.

Suporte:

FAPESP - Processo Nº 2016/19771-5

ABSTRACT

Oliveira DS. *Effects of exercise training on skeletal muscle lipid content and insulin resistance in patients with systemic autoimmune myopathies* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2020.

Background: Systemic autoimmune myopathies (SAM) are a group of rare muscular diseases that affect the skeletal muscles. Patients with SAM shows significative proximal and progressive muscle weakness as a consequence of the disease. Patients with SAM have various comorbidities, such as systemic arterial hypertension, obesity, diabetes mellitus, dyslipidemias and, consequently, metabolic syndrome. Insulin resistance (IR) plays a central role in the onset of metabolic syndrome. Several factors contribute to the etiology of IR, however, skeletal muscle fat infiltration seems to be one of the main factors responsible for its development. As well as metabolic disturbances, skeletal muscle fat infiltration contributes to the decrease of the contractile activity of the skeletal muscle, impairing its functionality. Exercise training has been an important tool in the rehabilitation of muscle strength and function in patients with SAM. However, to date, no study has evaluated the effects of exercise training on IR as well as in skeletal muscle fat infiltration of these patients. **Objectives:** To evaluate the effects of exercise training on IR and on skeletal muscle fat infiltration of patients with SAM. **Methods:** Nine patients diagnosed with SAM (SAM group: six with dermatomyositis (DM), two with antisynthetic syndrome (ASS) and one with polymyositis (PM)) and ten healthy control volunteers (CTRL group) matched by sex, age and body mass index were engaged in the present study. The following parameters were evaluated and compared: aerobic capacity (evaluated by a treadmill exercise test), muscle strength and function (evaluated by one repetition maximum (1RM), sit-to-stand and timed up-and-go tests), body composition (evaluated by bone densitometry), IR (evaluated by the oral glucose tolerance test (OGTT), homeostasis model of assessment (HOMA index), and Matsuda index), muscle biopsy (for later analysis of skeletal muscle fiber composition (evaluated by acidic (pH 4.3) and basic (pH 9.4) ATPases), evaluation of the lipid content of skeletal muscle (by Oil Red O (ORO) staining) and evaluation of gene expression (by sequencing RNA messenger (RNA-seq)). After the initial analyzes, the patients of the SAM group underwent an exercise training program, consisting of aerobic and strength exercises, twice-a-week, for twelve weeks. After the twelve weeks, all initial analyzes were reevaluated. **Results:** Patients has a stable disease according to IMACS and muscle enzymes. Patients in the SAM group presented lower aerobic capacity, muscle strength and function when compared to the control subjects. They also presented a smaller cross-sectional area of type I and type IIx fibers when compared to the CTRL group. In addition, patients in the SAM group had a higher proportion of type II fibers, and a lower proportion of type I fibers compared to the CTRL group. No significant differences were found in the IR parameters between the SAM and the CTRL group. Regarding lipid content, the SAM group had a higher lipid content in type II skeletal muscle fibers when compared to the CTRL group. In response to exercise training, the SAM group showed a significant improvement in aerobic capacity, muscle strength and function, body composition as well as in IR parameters. After exercise training, there was a significant increase in the cross-sectional area and in the proportion of type I skeletal muscle fibers. Finally, after exercise training, there was a significant decrease in the skeletal muscle lipid content of type I and type II skeletal muscle fibers. Finally, there was an increase in gene expression in genes related to the insulin pathway, lipid oxidation, autophagy and antioxidant capacity, while genes related to the ubiquitin proteasome decreased with exercise training. **Conclusions:** Exercise training was an effective tool in improving insulin sensitivity and B-cell function in patients with SAM. In addition, exercise training led to an increase in the size and

proportion of skeletal muscle type I fibers, in addition to decreasing the intramuscular lipid content of patients with SAM. Furthermore, there was an increase in gene expression in genes related to the insulin pathway, lipid oxidation, autophagy and antioxidant capacity, while genes related to the ubiquitin proteasome decreased with exercise training. Therefore, exercise training seems to be effective in reducing cardiometabolic risk, as well as improving the quality and muscular functionality of these patients.

Descriptors: Exercise; Lipids; Muscular diseases; Autoimmune diseases; Myositis; Insulin resistance.

Suport:

FAPESP - Processo N° 2016/19771-5

INTRODUÇÃO

1. Introdução

As miopatias autoimunes sistêmicas (MAS) constituem um grupo heterogêneo de doenças musculares autoimunes que tem em comum a fraqueza muscular progressiva dos membros (Dalakas, 2015). São doenças raras com uma incidência anual que varia entre 4,3 a 7,9 por um milhão de pessoas e uma prevalência que varia de 9,4 a 32,4 casos a cada 100 mil indivíduos (Bernatsky et al., 2009; Smoyer et al., 2012; Furst et al., 2012). Baseado em aspectos clínicos, laboratoriais, histológicos e evolutivos, as MAS podem ser divididas em dermatomiosite (DM), polimiosite (PM), miopatia necrosante imunomediada (MNIM), miosite por corpos de inclusão e síndrome antissintetase (SAS) (Connors et al., 2010; (Dalakas, 2010; 2015; Zong e Lundberg, 2011).

Pacientes com MAS apresentam diversas comorbidades, como dislipidemias, hipertensão arterial sistêmica e obesidade, além de aumento de resistência à ação da insulina (RI) (Lymaie et al., 2010; Wang et al., 2013; 2014; Oliveira et al., 2018). A RI tem um papel central no desenvolvimento da síndrome metabólica, uma condição que tem sido extensivamente descrita em pacientes com MAS (de Moraes et al., 2013; Silva et al., 2016; Araújo et al., 2018). A causa da RI nesses pacientes pode ser multifatorial, uma vez que fatores como inflamação crônica sistêmica, uso de glicocorticoides, sobrepeso e inatividade física podem contribuir para o seu aparecimento (Geer et al., 2014; Yazici et al., 2017). Além desses fatores, estudos de ressonância magnética tem demonstrado que pacientes com MAS apresentam um importante acúmulo de lipídios no músculo esquelético, sendo que esse acúmulo é associado a uma piora na sensibilidade à ação da insulina (Reimers et al., 1997; Yao et al., 2012; Miranda et al., 2014; Pinal-Fernandez et al., 2017).

O acúmulo de lipídios no músculo esquelético leva a liberação de espécies lipídicas tóxicas, que prejudicam a sinalização insulínica, causando RI nesse tecido (Glass et al., 2012). Além disso, o acúmulo de lipídios intramuscular está associado à diminuição da sinalização anabólica pela insulina, o que pode contribuir para o catabolismo muscular (Rivas et al., 2016). Dessa forma, prevenir o seu aparecimento, ou atenuar o excesso de lipídios intramuscular pode contribuir para melhorar os prejuízos metabólicos e funcionais em pacientes com MAS.

A prática de exercícios físicos em pacientes com MAS é considerada uma ferramenta na reabilitação da força e funcionalidade muscular, assim como na atenuação de genes e proteínas relacionadas a inflamação e fibrose muscular (Munters et al., 2013; 2016). Além disso, a prática de exercícios físicos pode atenuar o conteúdo de lipídios intramusculares, assim como na melhora da sensibilidade à ação da insulina. Os exercícios físicos levam a um aumento da

potência aeróbia, melhora da função mitocondrial e aumento de fibras do tipo I no músculo esquelético, o que estimula a oxidação de lipídios no músculo esquelético, diminuindo espécies lipídicas que acarretam na piora da sinalização à ação da insulina (Goodpaster et al., 2008; Louche et al., 2013). Contudo, até o presente momento, nenhum estudo avaliou os efeitos de um programa de treinamento físico no conteúdo lipídico, bem como na sensibilidade à ação da insulina em pacientes com MAS.

REVISÃO DA LITERATURA

2. Revisão da literatura

2.1. Miopatias autoimunes sistêmicas

2.1.2. Dermatomiosite

A dermatomiosite (DM) é uma doença autoimune multifatorial e crônica, com alterações cutâneas características e envolvimento de vários órgãos e sistemas, incluindo músculos, articulações, coração e pulmões (Dalakas, 2015). Afeta tanto crianças como adultos (Zong, 2011).

A DM difere das demais MAS devido às suas manifestações cutâneas clássicas, como os sinais e/ou pápulas de *Gotttron* e heliótropo, assim como o sinal em “V” do decote, sinal do “xale”, hipertrofia cuticular, hiperemia cuticular, entre outras lesões cutâneas (Schmidt, 2018).

A inflamação muscular da DM provoca fraqueza proximal e simétrica que pode desenvolver-se de forma aguda ou subaguda (Dalakas, 2010, 2015; Schmidt, 2018). Os pacientes sofrem com dificuldade de caminhar e subir escadas, bem como levantar os braços e objetos. A investigação laboratorial pode exibir um aumento significativo de enzimas musculares séricas, como a creatinofosfoquinase (CPK) (Dalakas, 2010, 2015; Schmidt, 2018).

A histologia do músculo esquelético tem sido utilizada como uma ferramenta para avaliação e diagnóstico das MAS. O principal achado histopatológico encontrado em amostras de músculo de pacientes com DM é a presença de miofibras atroficas, em regeneração e degeneração, na região perifascicular (Mandel et al., 2017). Acredita-se que ocorra uma depleção crítica de capilares, resultando em hipóxia local e subsequente lesão das miofibras, principalmente da região perifascicular (Kissel et al., 1986; Emslie-Smith e Engel, 1990, Dalakas e Hohlfeld, 2003).

Embora apresente muitas limitações, por muitos anos foi utilizado os critérios classificatórios de Bohan e Peter (Bohan e Peter, 1975) para a caracterização das MAS. Entretanto, recentemente, foram estabelecidos novos critérios para MAS - *European League Against Rheumatism / American College of Rheumatology* (EULAR / ACR) de 2017 (Lundberg et al., 2017). Para a classificação da DM adulta, os seguintes critérios são adotados: início da doença igual ou acima de 18 anos, presença de lesões características da doença (heliótropo e papúlas ou sinal de *Gotttron*), fraqueza proximal simétrica, geralmente progressiva, dos membros superiores e/ou inferiores, flexores do pescoço são relativamente mais fracos do que os extensores e os músculos proximais das pernas são relativamente mais fracos que os distais

(Lundberg et al., 2017). Em relação aos achados musculares, considera-se que o paciente apresente uma MAS na presença dos seguintes fatores: presença de infiltrado inflamatório mononuclear na região endomisial, perimisial e/ou perivascular, presença de atrofia perifascicular (Lundberg et al., 2017).

2.1.3. Polimiosite

Pacientes com polimiosite (PM) frequentemente tem manifestações semelhantes a DM, com fraqueza muscular simétrica e predominantemente proximal dos membros. Entretanto, pacientes com PM não apresentam as lesões de pele características da DM, além de apresentarem diferentes achados histopatológicos na biópsia muscular (Luo e Mastaglia, 2015). Além disso, essa doença afeta principalmente adultos, sendo rara em crianças (Dalakas, 1991).

Diferentemente da DM, onde há uma predominância de linfócitos T CD4+, a PM é uma miopatia autoimune mediada por células T CD8+ e restrita ao complexo de histocompatibilidade principal (MHC) de classe I (Gherardi, 2011). Em contraste com a DM, a PM não está visivelmente associada à perda capilar, atrofia perifascicular ou outras alterações isquêmicas (Gherardi, 2011). Os infiltrados inflamatórios na PM são compostos principalmente por células T CD8+ e macrófagos CD68+ (Lahouti e Christopher-Stine, 2015). Eles são encontrados principalmente no endomísio, onde inicialmente envolvem miofibras individuais saudáveis, atacam e invadem o centro da fibra e, finalmente, as destroem (Gherardi, 2011; Lahouti e Christopher-Stine, 2015).

Assim como na DM, os critérios classificatórios da PM utilizados atualmente são os do EULAR / ACR de 2017 (Lundberg et al., 2017). Para o diagnóstico da PM, os seguintes critérios são necessários: início dos sintomas acima dos 18 anos, ausência de lesões como heliótropo e pápulas ou sinal de *Gottron*, ausência de fraqueza dos flexores dos dedos, ausência de corpos de inclusão as fibras musculares, resposta a imunossupressores e aos glicocorticoides.

2.1.4. Síndrome antissintetase

A síndrome antissintetase (SAS) é uma miopatia autoimune sistêmica laboratorialmente caracterizada pela presença de autoanticorpos anti-aminoacil-tRNA sintetase (ARS) (Fujimoto et al., 2016). As ARS catalisam a ligação dependente de ATP de um único aminoácido ao seu tRNA específico durante a síntese proteica (Targoff, 2000). Anticorpos contra oito diferentes ARS foram identificados até o momento: anti-Jo-1 (histidil) - mais comum, anti-PL-7 (treonila),

anti-PL-12 (alanina), anti-OJ (isoleucina), anti-EJ (glicina), anti-KS (asparagina), anti-Zo (fenilalanil) e anti-Ha (tirosina) (Targoff, 2000; Fujimoto et al., 2016; Gunawardena et al., 2018;).

Um dos critérios classificatórios propostos para a SAS foi descrito por Connors et al. (2010). Esses critérios propuseram que os pacientes com SAS devem ter evidências de um autoanticorpo anti-ARS, além de pelo menos uma das seguintes manifestações clínicas: “mãos de mecânico”, fenômeno de Raynaud, miosite, febre, doença pulmonar intersticial ou artrite não erosiva.

2.2. Tratamento

Até o momento, não há diretrizes padrões para o tratamento das MAS, particularmente devido à escassez de estudos clínicos randomizados e a raridade da doença. Além disso, a presença dos diferentes subtipos de MAS, dificulta o desenho de estudos clínicos. Dessa forma, a abordagem terapêutica se baseia na opinião de especialistas, assim como de relato ou de série de casos (Barsotti e Lundberg, 2018).

Os glicocorticoides são a primeira linha de tratamento das MAS (Oddis, 2016). Entretanto, a utilização dessas drogas é acompanhada por diversos efeitos colaterais como diabetes, hipertensão arterial sistêmica, obesidade, catarata, osteoporose, dentre outros (Iaccariano et al., 2014).

Os imunossupressores são a segunda linha de tratamento, sendo utilizadas em associação com os glicocorticoides como forma de atingir a remissão dessas doenças. A introdução precoce de imunossupressores, especialmente em casos graves com prognóstico desfavorável, parece ser eficaz em facilitar a redução gradual de glicocorticoides e reduzir os efeitos colaterais relacionados aos glicocorticoides (Moghadam et al., 2015). Em geral, os imunossupressores mais utilizados para o tratamento de pacientes com MAS são metotrexato e/ou azatioprina (Oddis, 2016). Em pacientes refratários a utilização de imunossupressores, a utilização de imunoglobulina humana intravenosa parece ser segura e efetiva na melhora das manifestações clínicas (Dalakas et al., 1993). Nos últimos anos, os imunobiológicos também têm sido utilizados no tratamento de doença refratária a terapia convencional (Fasano et al., 2017).

2.3. Comorbidades

Pacientes com MAS apresentam diversas comorbidades, como hipertensão arterial sistêmica, obesidade, diabetes mellitus, dislipidemia e, consequentemente, síndrome metabólica (Lymaie et al., 2010; de Moraes et al., 2013; Wang et al., 2013; Wang et al., 2014; Silva et al., 2016; Araújo et al., 2018). A presença de síndrome metabólica, por sua vez, tem sido associada a um maior risco de doenças cardiovasculares e mortalidade (Kurl et al., 2016; Hess et al., 2017; Soto et al., 2017; Ju et al., 2017).

Nas MAS, a síndrome metabólica tem sido associada à idade e atividade da doença (Silva et al., 2016), além de estar associada a um maior risco de doenças cardiovasculares nesses pacientes (Araújo et al., 2018). A causa da síndrome metabólica pode ser multifatorial. No entanto, a RI, acompanhada por um excesso de ácidos graxos decorrente de uma oxidação inadequada, parece ter um papel central em seu desenvolvimento (Lann e Leoith, 2007).

2.4. Resistência à ação da insulina

A insulina é um hormônio polipeptídico que foi descoberto pela primeira vez por Frederick G. Banting e Charles H. Best (Tan e Merchant, 2017). O hormônio foi posteriormente purificado por James B. Collip e agora tem sido utilizado na prática clínica para tratar doenças com deficiência de insulina, como diabetes mellitus (Blair, 2016). A insulina é secretada pelas células beta das ilhotas pancreáticas de *Langerhans* em resposta ao consumo de glicose e aminoácidos durante uma refeição (Kalwatt e Cobb, 2017). A insulina é o hormônio regulatório central na manutenção da homeostase da glicose e está envolvida em processos anabólicos como o crescimento e desenvolvimento de tecidos (Mirsky, 1964). Em uma pessoa saudável, a glicose é mantida dentro de valores muito estreitos no sangue. Isso é mantido devido à regulação da produção de glicose pelo fígado, e em menor escala, pelos rins, bem como pela captação de glicose pelos tecidos periféricos, principalmente, músculo esquelético, fígado e tecido adiposo (Mirsky, 1964; Kalwatt e Cobb, 2017). Além do controle da glicose sanguínea, a insulina também exerce um potente controle no metabolismo de lipídios, estimulando a síntese lipídica no fígado e células adiposas, além de atenuar a oxidação de lipídios por diminuir a liberação de triglicerídeos em ácidos graxos (Saltiel, 2016). Assim, a insulina atua promovendo o armazenamento de energia e inibindo a mobilização das reservas de energia. Nas células musculares e adipócitos, a insulina ativa a captação de glicose enquanto nas células hepáticas promove a síntese de glicogênio e gorduras (Mayer et al., 2007).

Em condições normais, a ação da insulina é iniciada pela interação com receptores específicos na superfície das células de diversos tipos celulares, como músculo esquelético, adipócitos, hepatócitos e neurônios no sistema nervoso central (De Meyts, 2004). O receptor de insulina é um dímero composto de duas unidades idênticas. Cada unidade tem uma cadeia alfa e uma cadeia beta (Menting et al., 2013). As duas cadeias alfas criam um local de ligação para insulina. As duas cadeias beta contêm domínios proteicos tirosina quinase, e por isso o receptor de insulina também é chamado de receptor de insulina tirosina quinase (Lee e Pilch, 1994; Menting et al., 2013).

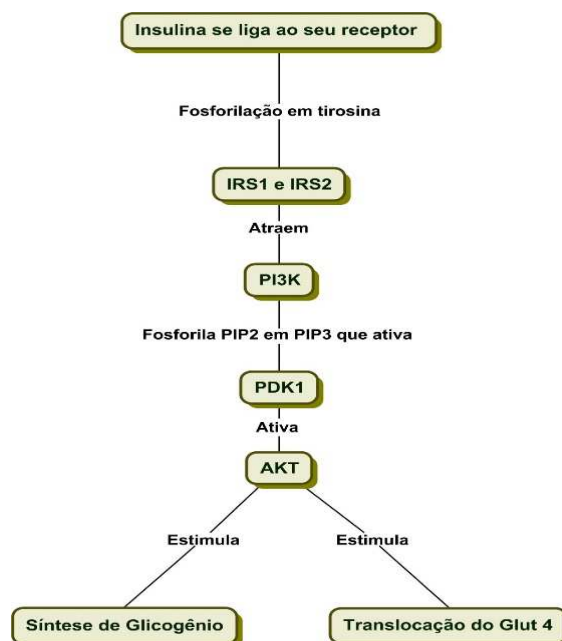
Quando a insulina se liga ao seu receptor, ocorre um fechamento das duas cadeias alfa, o que leva as cadeias betas a se moverem uma próxima a outra (Lee e Pilch, 1994). Isso leva a uma fosforilação cruzada pelo domínio tirosina quinase que muda a conformação e ativa quinases do receptor de insulina, que irão fosforilar diversos substratos em tirosina quinase (Boucher et al., 2014). Desses substratos, os substratos do receptor de insulina, conhecidos como *insulin receptor substrate 1 e 2* (IRS-1 e IRS-2) parecem exercer um importante papel na cascata da insulina (Boura-Halfon e Zick, 2009). Após a ligação com o receptor de insulina, o IRS é fosforilado pelas quinases do receptor de insulina. Os IRS são chamados de proteínas adaptadoras, pois eles agem como um “ponto de ligação” para uma quinase lipídica chamada de *phosphoinositide 3-kinase* (PI3-K) (Guo, 2014).

A PI3-K, por sua vez, fosforila uma molécula que fica na membrana celular chamada de *Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate* (PIP-2) em *phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate* (PIP-3) (Deshmukh, 2016). A PIP-3 move-se pela membrana e eventualmente acaba ativando uma proteína chamada de *3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1* (PDK-1) (Guo, 2014; Deshmukh, 2016).

A PDK-1 ativa uma proteína quinase efetora, a *protein kinase B* (AKT). A AKT não está ligada a membrana e pode se mover livremente na célula (Boucher et al., 2014). A AKT atua de duas formas importantes:

- (1) Estimulando o movimento de transportadores de glicose (GLUT: *glucose transporter*) para a membrana da célula para captação de glicose (Khan e Pessin, 2002);
- (2) Fosforilando enzimas que sintetizam glicogênio das moléculas de glicose (Roach et al., 2012).

A **Figura 1** simplifica a via de sinalização de insulina.

Figura 1: Sinalização da via insulínica

AKT: *protein kinase B*; GLUT: *glucose transporter 4*; IRS-1 e IRS-2: *insulin receptor soluble-1 e 2*; PDK1: *3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1*; PI3K: *phosphoinositide 3-kinase*; PIP2: *phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*; PIP3: *phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate*.

A RI pode ser definida como um prejuízo na capacidade do organismo de responder a insulina (Lebovitz, 2001). Isso, por sua vez, é contrabalanceado por um aumento na secreção de insulina pelas células beta pancreáticas (hiperinsulinemia) para manter os níveis de glicose dentro das faixas de normalidade (Lastra et al., 2006). Dessa forma, a RI também pode ser acompanhada por uma exaustão das células beta pancreáticas, causando disfunção dessas células (Ward et al., 1986; Ammom, 1997).

A causa da RI é complexa, mas sabe-se que fatores como inatividade física, sedentarismo, sobrepeso, obesidade, inflamação crônica, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e autofagia, parecem ter um papel importante em seu desenvolvimento (Petersen e Shulman, 2006; Morino et al., 2006; Cree-Green et al., 2013). Além desses fatores, diversos estudos têm demonstrado a importância da infiltração de lipídios em tecidos ectópicos na etiologia da RI (Summers, 2006; Glass e Olefsky, 2012; Racheck, 2014; Samuel e Shulman, 2016). O músculo esquelético é o local de maior captação de glicose no organismo, e o acúmulo de lipídios dentro do músculo esquelético prejudica a sensibilidade à ação da insulina nesse tecido (Rachel et al., 2014). A RI no músculo esquelético é considerada o defeito inicial ou primário, que pode ser

detectado décadas antes da falência das células beta e da hiperglicemia (DeFronzo e Tripathy, 2009). Por isso, entender seus mecanismos se faz importante.

O acúmulo de espécies lipídicas tóxicas no músculo esquelético pode ocorrer como resultado do aumento da absorção de ácidos graxos ou diminuição da oxidação dessas substâncias (Galgani et al., 2008), sendo esse considerado o fator primário responsável pela RI no músculo esquelético (Krssak et al., 1999; Kelley et al., 2002). O conteúdo de lipídios intramuscular pode ser definido como qualquer forma de lipídio que é localizada dentro das células musculares e estocada como gotículas de lipídios, na maioria das vezes em forma de triglicerídeos, mas, em alguns casos, como intermediários lipídicos como diacilglicerol e ceramidas (Brons e Grunnet, 2017). Foi demonstrado que sob condições de excesso de lipídios intramusculares, os intermediários lipídicos (diacilglicerol e ceramidas), estão aumentados no músculo esquelético, o que pode ativar a *protein kinase C* (PKC), resultando em uma fosforilação em serina do IRS-1, prejudicando sua capacidade de associar-se ao receptor de insulina e interferindo na ativação da PI3K, levando a RI (Savage et al., 2007). Esse fenômeno é conhecido na literatura científica como lipotoxicidade (Engin, 2017; Yazici e Sezer, 2017).

Em pacientes com MAS, a RI tem sido positivamente associada a circunferência abdominal, peso e índice de massa corporal (IMC) (Oliveira et al., 2018), sugerindo que o sobrepeso e/ou obesidade presente nesses pacientes podem ter um impacto no desenvolvimento da RI. Outros fatores também podem contribuir para o aparecimento de RI nesses pacientes, como a inflamação crônica e o uso de glicocorticoides (Glass et al., 2012; Geer et al., 2014). Além disso, pacientes com MAS apresentam diminuição da potência aeróbia, diminuição de fibras do tipo I no músculo esquelético e uma importante disfunção mitocondrial, fatores esses que contribuem para uma diminuição de oxidação de ácidos graxos no músculo esquelético, culminando com o aumento do conteúdo de lipídios intramusculares (Wiesinger et al., 2000; Dastmalchi et al., 2017; Meyer et al., 2017). Corroborando esses dados, achados de ressonância magnética demonstram que pacientes com MAS podem apresentar acúmulo de lipídios intramusculares, sendo esse um importante marcador para avaliar o grau de progressão da doença (Reimers e Finkenstaedt, 1997; Yao e Gai, 2012; Miranda et al., 2014). Dessa forma, entender os mecanismos que contribuem para o acúmulo de lipídios intramusculares nesses pacientes, pode auxiliar a entender melhor a fisiopatogênese dessas doenças.

2.5. Infiltração de lipídios no músculo esquelético

O músculo esquelético responde fisiologicamente à degeneração da fibra muscular com um processo regenerativo complexo e altamente coordenado. Isso leva ao reparo de tecido danificado ou a formação de novas fibras que progressivamente substituem as danificadas, restaurando a integridade original (Shadrin et al., 2016). As células satélites estão localizadas entre o sarcolema e a lâmina basal das fibras saudáveis em estado de repouso, quiescentes; sendo elas as protagonistas desse processo regenerativo (Tidball, 2017). Após o dano, elas ativam o processo miogênico, proliferam e se diferenciam em mioblastos que são capazes de se fundirem ou se fundirem com outras fibras (Shadrin et al., 2016; Tidball, 2017).

Apesar da capacidade de regeneração do músculo esquelético saudável, a destruição extensiva e generalizada de fibras musculares é uma característica de várias doenças em que o gatilho não pode ser eliminado, como as distrofias musculares esqueléticas e as MAS. Nessas doenças, a lesão persistente compromete a capacidade do tecido de se curar e progressivamente leva à substituição de fibras musculares com tecidos ectópicos, como ossos, tecido fibrótico e lipídios (Sciorati et al., 2015; Perandini et al., 2018).

Além das células satélites, outra população de células-tronco chamada de células fibroadipogênicas coexistem no músculo esquelético (Sciorati et al., 2015). Essas células-tronco musculares apresentam como marcador principal, o *platelet-derived growth factor receptor alpha* (PDGFRA) e apresentam funções diferentes das células satélites (Dey et al., 2015). As células fibroadipogênicas e as células satélites não apresentam progenitores comuns, residem próximas ao músculo em degeneração e ambas são importantes para regeneração (Perandini et al., 2018). Enquanto as células satélites tem um papel importante na miogênese e regeneração muscular, e são resistentes a diferenciação adipogênica, as células fibroadipogênicas se diferenciam rapidamente em adipócitos sob várias condições, como lesão muscular ou tratamento com glicocorticoides (Malecova et al., 2018).

Vários fatores parecem contribuir para ativação de células fibroadipogênicas e, consequentemente, aumento do conteúdo de lipídios intramusculares. O uso de glicocorticoides, por exemplo, parece estimular as células fibroadipogênicas a se diferenciarem em adipócitos em músculos lesionados (Dong et al., 2014). O desuso em curto prazo também promove a infiltração de adipócitos no músculo esquelético, por aumentar a expressão de proteínas relacionadas as células fibroadipogênicas e ao acúmulo de lipídios como o PDGFRA, o *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR γ), *CCAAT/enhancer-binding protein alpha* (CEBP α) e *fatty acid-binding protein 4* (FABP4) (Pagano et al., 2018). A lesão muscular,

que acontece em doenças musculares, também é um importante ativador de células fibroadipogênicas (Pagano et al., 2010; Penton et al., 2013). Por fim, o próprio envelhecimento, um processo fisiológico normal a qualquer ser humano, é caracterizado por ativação de células fibroadipogênicas, e, conseqüentemente, um importante aumento de lipídios intramusculares (Lukjanenko et al., 2019). O uso de glicocorticoides, o desuso e a lesão muscular são características encontradas em pacientes com MAS, sendo que esses parâmetros poderiam potencialmente aumentar a expressão de genes e proteínas relacionadas as células fibroadipogênicas, levando ao aumento de lipídios intramusculares.

O acúmulo de lipídios intramusculares, decorrente de uma maior ativação de células fibroadipogênicas, também é associado a importantes prejuízos funcionais. A síntese proteica aumenta a hipertrofia muscular, auxiliando assim na manutenção da força muscular, enquanto uma síntese proteica prejudicada contribui para a atrofia muscular (Gordon et al., 2013). A insulina é um importante fator anabólico para o músculo esquelético e o acúmulo de lipídios intramusculares diminui a sensibilidade à insulina, prejudicando a capacidade de síntese proteica no músculo esquelético (Rivas et al., 2016). Assim, a diminuição da sensibilidade a insulina decorrente da infiltração de lipídios no músculo esquelético é uma via pela qual a infiltração de lipídios intramusculares pode afetar diretamente a massa e a força muscular.

Baseando-se nessas informações prévias, a atenuação da infiltração de lipídios no músculo esquelético de pacientes com MAS pode contribuir para diminuir os prejuízos metabólicos e funcionais associados a esse parâmetro nessas doenças. Neste contexto, a prática de exercícios físicos em pacientes com MAS, tem sido um importante aliado na melhora da potência aeróbia, força e capacidade funcional, diminuição da inflamação e atenuação dos efeitos deletérios dos glicocorticoides (Munter, 2013; 2016; de Souza et al., 2018). Da mesma forma, o exercício físico é um importante aliado em atenuar a RI em diversas condições, como obesidade, diabetes do tipo II, e doenças autoimunes (Motahari-Tabari et al., 2014; Di Meo et al., 2017; Benatti et al., 2018). Além disso, os lipídios intramusculares são uma fonte de energia importante durante o exercício físico. Dessa forma, o exercício físico poderia ser um potencial aliado em atenuar a RI e a infiltração de gorduras no músculo esquelético de pacientes com MAS.

2.6. Efeitos do exercício físico na resistência insulínica e na infiltração de lipídios no músculo esquelético

No músculo esquelético, o transporte de glicose pode ser ativado por duas vias distintas, sendo uma ativada pela insulina, substâncias que mimetizam a insulina e fatores de crescimento semelhantes a insulina e outra pela hipóxia e exercício físico (Zierath et al., 2000). A captação de glicose mediada pelo exercício físico parece ocorrer pela ativação da *AMP-activated protein kinase* (AMPK). A ativação da AMPK é resultado do decréscimo do estado energético celular. Na situação em que a relação AMP : ATP aumenta, ocorre uma mudança conformacional na molécula, deixando-a suscetível à fosforilação e ativação pela *AMPK kinase* (AMPKK) (Hardie e Carling, 1997; Pauli et al., 2009). A fosforilação da AMPKK ativa vias que geram o aumento de ATP, tais como a oxidação de ácidos graxos, ao mesmo tempo em que desativa as vias anabólicas que consomem o ATP, como a síntese de ácidos graxos (Pauli et al., 2009). Esse aumento da atividade da AMPK em resposta a uma necessidade em gerar ATP durante o exercício físico promove a translocação das vesículas contendo GLUT-4, facilitando o transporte de glicose para o músculo de maneira semelhante à da insulina, embora isso ocorra por vias de sinalização diferentes e independentes (Pauli et al., 2009).

Contudo, além da AMPK, outros mecanismos independentes da insulina também parecem colaborar para captação de glicose durante o exercício físico. Dentre esses mecanismos, a produção de cálcio durante a contração muscular induzindo aumento em proteínas intracelulares como a família das Ca^{2+} / *calmodulin-dependent protein kinase* (CaMK) e da família das *protein kinase C* (PKC), assim como o aumento da óxido nítrico sintase levando ao aumento de óxido nítrico, também parecem contribuir para translocação do GLUT-4 em resposta ao exercício físico (Wright, 2007; Merry e McConell, 2009).

Além desses efeitos, o exercício físico promove importantes benefícios no conteúdo de lipídios intramuscular, o que por sua vez pode culminar com melhoras na sensibilidade à ação da insulina. Condições de inatividade física, como o desuso prolongado, estão associadas a uma maior expressão de genes relacionados ao conteúdo de lipídios intramuscular e, consequentemente, uma maior infiltração de ácidos graxos no músculo esquelético (Pagano et al., 2018). Em indivíduos jovens, a imobilização por apenas quatro semanas leva a um maior acúmulo de lipídios no músculo esquelético (Manini et al., 2007). Um maior acúmulo de lipídios intramuscular tem sido reportado no membro parético de sobreviventes de acidente vascular encefálico (Ryan et al., 2002). Além disso, o conteúdo de lipídios intramuscular é maior em pacientes após seis semanas de lesão medular comparado a indivíduos saudáveis

(Gorgey e Dudley, 2007). Dessa forma, fica claro que a inatividade física pode ser um importante fator de risco para o acúmulo de lipídios intramuscular.

O exercício físico é considerado uma importante ferramenta em atenuar o conteúdo de lipídios intramuscular (Kim et al., 2004; Goodpaster et al., 2008; Louche et al., 2013; Ikenaga et al., 2017). O prática do exercício físico por oito semanas, aumentou a capacidade oxidativa e expressão de proteínas lipolíticas no músculo esquelético de indivíduos obesos, contribuindo assim para a atenuação do conteúdo de lipídios intramuscular (Louche et al., 2013). Em indivíduos idosos, que apresentam um elevado conteúdo de lipídios intramuscular decorrente do envelhecimento, uma corrida de intensidade leve por 12 semanas, levou a uma diminuição do conteúdo de lipídios intramuscular, melhorando a qualidade do músculo esquelético (Ikenaga et al., 2017). Além disso, nessa mesma população, o exercício físico promove um aumento na expressão proteica de GLUT-4, aumento na capacidade oxidativa do músculo e consequente diminuição do conteúdo de lipídios intramuscular, contribuindo assim para a melhora da RI (Kim et al., 2004). Assim, o exercício físico pode ser uma importante ferramenta em atenuar o acúmulo de lipídios intramuscular, além de prevenir seu aparecimento (Goodpaster et al., 2008).

Contudo, estudos transversais têm demonstrado que assim como em condições de RI, obesidade e envelhecimento, atletas de alto rendimento apresentam um elevado conteúdo de lipídios intramuscular (Dubé et al., 2016; Nakagawa e Hattori, 2017; Koh et al., 2017). Além disso, alguns estudos tem demonstrado que em resposta ao exercício físico, ocorre um aumento do conteúdo de lipídios intramuscular, em especial, em fibras do tipo I (Pruchnic et al., 2003; Tarnopolski et al., 2007; McCormack et al., 2014; St-Jean-Pelletier et al., 2017). Entretanto, o músculo esquelético de atletas de alto rendimento é altamente sensível à ação da insulina, além de apresentar uma alta capacidade oxidativa, apesar do conteúdo de lipídios intramuscular elevado (Goodpaster et al., 2001). Esse fenômeno é conhecido na literatura científica como “paradoxo do atleta”, e sugere que a capacidade de oxidação de lipídios intramusculares é um importante mediador da associação entre o acúmulo excessivo de lipídios intramusculares e RI (Goodpaster et al., 2001).

Partindo dos dados descritos acima, fica claro que o exercício físico pode ser uma importante terapia não farmacológica em melhorar a RI, principalmente por levar a um aumento da capacidade oxidativa do músculo esquelético, contribuindo para atenuação do excesso de lipídios intramusculares. Entretanto, até o presente momento, nenhum estudo avaliou os efeitos de um programa de exercício físico na RI e conteúdo lipídico intramuscular em pacientes com MAS. Nossa hipótese, é que o exercício físico poderia aumentar a capacidade oxidativa do

músculo esquelético, atenuando o excesso de lípidios intramuscular, contribuido assim para melhora da qualidade e funcionalidade do músculo esquelético, além de melhorar os parâmetros metabólicos relacionados a essas doenças.

OBJETIVOS

3. Objetivos

3.1. Objetivos primários

Avaliar os efeitos de um programa de treinamento físico combinado no conteúdo lipídico e na resistência à ação da insulina do músculo esquelético de pacientes com MAS.

3.2. Objetivos secundários

- 1) Avaliar e comparar os indicadores de potência aeróbia, força, capacidade funcional e composição corporal entre pacientes com MAS e o grupo controle (CTRL);
- 2) Avaliar e comparar os parâmetros de resistência à ação da insulina entre pacientes com MAS e o CTRL;
- 3) Avaliar e comparar o conteúdo lipídico do músculo esquelético de pacientes com MAS e do CTRL;
- 4) Verificar os efeitos de um programa de 12 semanas de treinamento físico combinado na potência aeróbia, força e capacidade funcional e composição corporal de pacientes com MAS;
- 5) Verificar os efeitos de um programa de 12 semanas de treinamento físico combinado na expressão gênica do músculo esquelético de pacientes com MAS.

MATERIAIS E MÉTODOS

4. Metodologia

4.1. Desenho do estudo e casuística

Trata-se de um estudo experimental quasi-prospectivo, único centro, no qual foram inicialmente avaliados 138 pacientes com MAS, no período de 2017 a 2018, provenientes da Unidade de Miopatias Inflamatórias do Serviço de Reumatologia (Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP).

O presente estudo foi aprovado pela CAPPesq (HCFMUSP/SP; CAAE: 61474416.5.0000.0068) e anexado no site ClinicalTrials.gov (NCT03092167). Todos os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Os pacientes com DM e PM preencheram os critérios classificatórios de EULAR / ACR 2017 (Lundberg et al., 2017), enquanto os pacientes com SAS preenchiam os critérios classificatórios modificados de Connors et al. (2010): presença de um autoanticorpo anti-ARS, e de pelo menos duas das três manifestações clínicas: miosite, pneumopatia intersticial ou artrite não erosiva, além de pelo menos um dos seguintes itens: “mãos de mecânico”, fenômeno de Raynaud ou febre.

O estudo foi dividido em duas partes. Inicialmente foi feito um estudo transversal, que visou avaliar e comparar a potência aeróbia, força e função muscular, parâmetros clínicos, tipologia de fibras musculares, RI, conteúdo lipídico intramuscular, bem como a expressão de genes e proteínas do músculo esquelético de pacientes com MAS e de um grupo controle sem a doença, que foi pareado por idade, sexo e índice de massa corporal (IMC) com o grupo MAS. Para testar essa hipótese dois grupos foram selecionados: Grupo MAS e grupo controle (CTRL). A **Figura 2** mostra o desenho do estudo.

Os critérios de elegibilidade para os pacientes do grupo MAS, foram os seguintes:

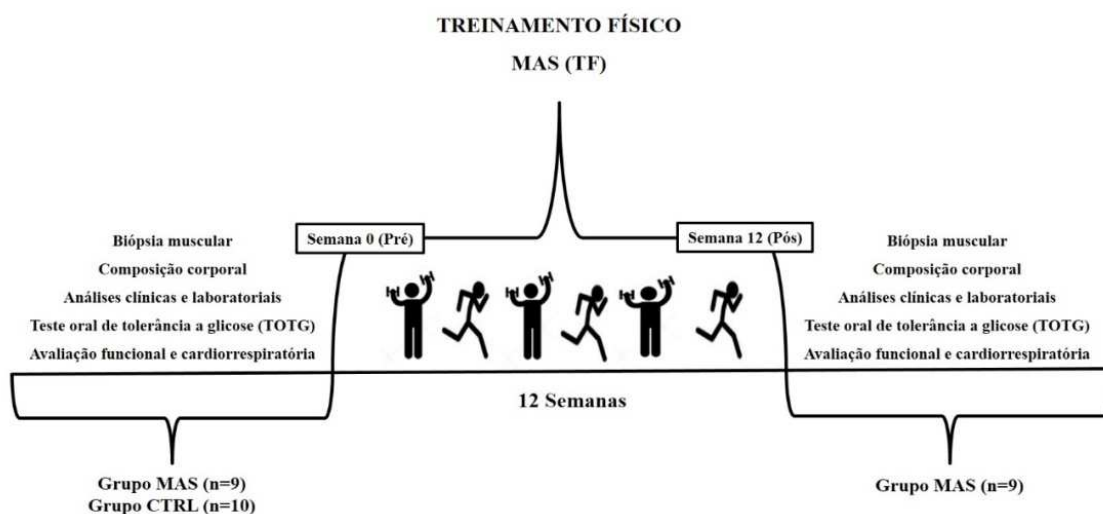
- Ambos os sexos e com a idade ≥ 18 anos de idade;
- Ao menos seis meses sem praticar nenhum tipo de atividade ou exercício físico;
- Em uso de prednisona $\leq 0,5$ mg/kg/dia nos últimos três meses. Pacientes com essas doses tiveram as doses mantidas longo do estudo;
- IMC < 35 kg/m².

Como critérios de exclusão, presença de:

- Doenças graves ou descompensadas ou doenças que, segundo o julgamento do médico responsável pelo estudo, interfiram nos resultados do trabalho e/ou na saúde do paciente;

- Presença ou história de insuficiência cardíaca congestiva, arritmias ou alterações eletrocardiográficas do segmento ST, coronariopatias;
- História crônica (> 1 ano) de hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias e diabetes mellitus não controlados;
- Com comprometimento à deambulação (afecção articulares em membros);
- Reativação da doença ou doença em franca atividade.
- Uso de estatinas e/ou fibratos;
- Pacientes gestantes ou lactantes;
- Diabetes mellitus descontrolado;
- Infecções crônicas e/ou em tratamento atual (virais, bacterianas ou fúngicas);
- Neoplasias;
- Tabagismo.

Figura 2: Desenho do estudo



MAS: miopatias autoimunes sistêmicas; CTRL: grupo controle.

Dados demográficos, manifestações clínicas e laboratoriais dos pacientes foram obtidos por entrevista e também de uma revisão sistemática dos prontuários. Foram analisados como parâmetros: idade, composição corporal e medicamentos. O tratamento medicamentoso consistiu de: glicocorticoides e imunossupressores (azatioprina 2 - 3mg/kg/dia, metotrexato 20 - 25mg/semana, micofenolato de mofetil 2 - 3g/dia).

Os (as) voluntários (as) do grupo CTRL foram selecionados de acordo com a facilidade para participar do projeto (ou seja, funcionários do HCFMUSP/SP, acompanhantes dos pacientes, etc) e preenchiam os seguintes critérios:

Critérios de inclusão:

- Não praticar exercício físico regularmente pelos últimos seis meses antes do início do estudo;

Critério de exclusão:

- Doença conhecida ou fazer uso de medicamentos que possam interferir nos resultados do estudo;
- Desnutrição grave com perda de mais de 35% do seu peso normal;
- Arritmias, distúrbios de condução, hipertensão arterial ou qualquer outra alteração detectada no traçado eletrocardiográfico durante o teste cardiopulmonar.

4.2. Avaliações do estudo

Após a triagem inicial, tanto pacientes do grupo MAS quando os indivíduos do grupo CTRL foram submetidos a: avaliação da evolução clínica e status atual da doença (apenas grupo MAS), teste de esforço máximo para determinar a capacidade cardiorrespiratória (teste ergoespiométrico), teste de força para avaliar a força dinâmica e isométrica, testes funcionais, exames laboratoriais, composição corporal, curva glicêmica e biópsia muscular para posterior avaliação histológica, do conteúdo de gordura intramuscular, assim como avaliação da expressão gênica. Após essas avaliações iniciais, os pacientes do grupo MAS eram submetidos a um programa de treinamento físico (composto por exercício aeróbio e exercícios de força), duas vezes por semana, pelo período de doze semanas. Após as doze semanas, todas as análises iniciais eram refeitas, com o intuito de avaliar o efeito do exercício físico nesses parâmetros.

4.3. Evolução clínica e *status* atual da doença

A avaliação da evolução clínica e o *status* atual da doença foram realizados por um médico reumatologista e constou em avaliar a presença ou não de outras doenças e/ou comorbidades, definir o tipo de MAS, avaliar o nível de atividade da doença, por intermédio dos parâmetros clínicos e os parâmetros do *status* da doença foram baseados nos escores estabelecidos pela *International Myositis Assessment & Clinical Studies Group* (IMACS), sendo ele composto pelos seguintes questionários: Teste muscular manual (MMT8: *Manual*

Muscle Testing-8) (Harris-Love et al., 2009), Escala analógica visual para avaliação da atividade da miosite (MYOACT: *Myositis Disease Activity Assessment Visual Analogue Scales*) (Rider et al., 1997 e 2003), avaliação global da doença pelo médico e pelo paciente através da escala analógica visual (EVA) (Miller et al., 2001), e do questionário de avaliação da saúde (HAQ: *Health Assessment Questionnaire*) (Ekdahl et al., 1988). Além disso, foram avaliados as enzimas musculares (CPK, desidrogenase láctica, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase). O paciente foi considerado como tendo uma resposta clínica completa quando tinha período contínuo de seis meses sem evidência de atividade de doença enquanto ainda recebia terapia. A remissão clínica foi definida como o período contínuo de seis meses sem evidência de atividade da doença sem qualquer terapia.

4.4. Avaliação cardiorrespiratória

O teste de avaliação cardiorrespiratória foi realizado no Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia (LACRE) do Serviço de Reumatologia do HCFMUSP/SP. Durante os testes a temperatura da sala foi mantida entre 20°C - 22°C, e a umidade relativa percentual do ar e a pressão barométricos monitorados continuamente durante a realização das avaliações. Todos os participantes foram avaliados pelo menos duas horas após a refeição e foram orientados a não ingerir bebidas cafeinadas e não fazer atividade física nas 24 horas antecedentes ao exame.

Foi realizado um eletrocardiograma de repouso utilizando-se as doze derivações padrão (D1, D2, D3, aVR, aVL, aVF, V1, V2, V3, V4, V5, V6). Em seguida, a pressão arterial de repouso foi aferida pelo método auscultatório com esfigmomanômetro coluna de mercúrio. As participantes do estudo realizaram um teste ergométrico, em esteira rolante (*Centurion 200, Micromed*), seguindo um protocolo em rampa com aumento a cada minuto na carga de trabalho (velocidade e/ou inclinação) até a exaustão.

Durante o teste de esforço, o comportamento cardiovascular foi continuamente avaliado através de eletrocardiógrafo, com as doze derivações simultâneas (D1, D2, D3, aVR, aVL, aVF, V1, V2, V3, V4, V5, V6). A frequência cardíaca (FC) foi registrada em repouso com as pacientes posicionadas na esteira rolante, ao final de cada minuto do teste de esforço e no 1º, 2º e 4º min de recuperação. A pressão arterial foi medida sempre pelo mesmo avaliador, em repouso, a cada dois estágios de exercício e no 1º, 2º e 4º minuto do período de recuperação.

A avaliação da potência aeróbia máxima foi feita através da medida direta do consumo de oxigênio no pico do exercício ($\text{VO}_{2\text{ pico}}$).

Simultaneamente ao teste de esforço, cada participante do estudo foi conectada a um ergoespirômetro computadorizado (*Metalyzer* modelo III *b / breath- by- breath*), por meio de um sistema de válvula e sensor onde a ventilação pulmonar (VE) foi medida a cada expiração. Por meio de sensores de oxigênio (O₂) e de dióxido de carbono (CO₂) foram analisadas as frações expiradas de O₂ e CO₂, respectivamente, a cada ciclo respiratório.

A partir das análises da VE e das concentrações dos gases expirados, foram calculados o consumo de oxigênio (VO₂) e a produção de dióxido de carbono (VCO₂).

O VO₂_{pico} foi considerado como a média dos valores nos últimos 30 segundos de esforço. O término do esforço ocorreu quando o indivíduo não conseguiu mais manter a velocidade imposta pelo ergômetro. Para confirmar a ocorrência do VO₂_{pico}, pelo menos dois dos três critérios a seguir deviam ser atingidos: (1) incidência de um platô no VO₂; (2) razão de trocas respiratórias acima de 1,10; e/ou (3) frequência cardíaca maior que 90% do máximo predito para a idade (Poole et al., 2008).

O limiar anaeróbio ventilatório (LAV) foi determinado sempre pelo mesmo avaliador, com a utilização dos seguintes critérios (Wasserman et al., 1973):

- 1) Valores de equivalente ventilatório de oxigênio (VE/VO₂) e pressão parcial de oxigênio ao final da expiração (PETO₂) mais baixo, isto é, antes de iniciarem um aumento progressivo, sem elevação concomitante do equivalente ventilatório de dióxido de carbono (VE/VCO₂);
- 2) Perda de linearidade da relação entre consumo de oxigênio (VO₂) e a produção de dióxido de carbono (VCO₂);
- 3) Incremento não-linear do valor da razão da troca respiratória (RER).

O ponto de compensação respiratória (PCR) foi determinado sempre pelo mesmo avaliador, com a utilização dos seguintes critérios (Wasserman et al., 1973):

- 1) Valores de equivalente ventilatório de dióxido de carbono (VE/VCO₂) mais baixos antes de iniciarem um aumento progressivo;
- 2) Pressão parcial de dióxido de carbono ao final da expiração (PETCO₂) mais alto antes de começar a diminuir.

4.5. Avaliação da força muscular

A fim de avaliar o ganho de força muscular dos pacientes com MAS, foi realizado o teste de uma repetição máxima (1 RM) antes e após o programa de treinamento físico. O teste de 1 RM foi feito no exercício supino e *leg press* (Brown e Weir, 2001). Antes do teste, foram feitas duas familiarizações, com um intervalo de 48 horas entre elas. O aquecimento consistia de 8 repetições a 50% de 1 RM estimado, com um intervalo de 2 minutos de descanso. E após isso, três repetições a 70% de 1 RM estimado com um intervalo de 3 minutos. Para determinar o 1 RM, foram feitas cinco tentativas, e o maior valor registrado foi considerado a carga máxima. Entre as tentativas, o intervalo foi de 3 minutos (Brown e Weir, 2001).

4.6. Testes funcionais

Os testes de função muscular foram o de sentar e levantar (Newcomer et al., 1993), e levantar e caminhar (Podsiadlo e Richardson, 1991). Foi realizada uma familiarização que foi precedida por no mínimo 48 horas de intervalo antes do teste. O teste de sentar e levantar consistiu no maior número de execuções dessa tarefa no tempo de 30 segundos. No mesmo dia foram realizadas duas tentativas, sendo a maior considerada para a avaliação. No teste de levantar e caminhar os pacientes percorreram uma ida e volta num percurso de aproximadamente três metros. O menor tempo foi considerado o resultado do teste.

4.7. Exames laboratoriais

Uma amostra de sangue em jejum foi coletada de rotina (Laboratório Central, HCFMUSP/SP) de enzimas musculares [CPK, desidrogenase lática (DHL), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST)], e perfil de colesterol (colesterol total e frações).

4.8. Avaliação da resistência à ação da insulina

Para avaliação da RI, foi realizado o teste oral de tolerância à glicose (TOTG). Os pacientes compareceram a enfermaria do Serviço de Reumatologia (HCFMUSP/SP), em jejum noturno de 12 horas. Foram então coletados 15 mL de sangue da veia basílica mediana ou cefálica para as análises de concentrações basais de glicose, insulina e peptídeo C. Foi então

administrado por via oral, 75 gramas de solução de dextrose (Laborclin®) em 300 mL de água os pacientes, seguidos de coletas de sangue para determinação da glicose, insulina e peptídeo C a serem realizadas antes, 30, 60, 90, 120 minutos após a administração da solução de dextrose. A área total abaixo da curva de insulina e glicose foi calculada por meio do modelo trapezoide. A partir dos valores de glicemia e insulinemia de jejum, foi calculado o modelo de avaliação da homeostase 1 e 2 [HOMA-IR1 e HOMA-IR2 (*Homeostase Model Assessment of Insulin Resistance* (HOMA - IR)], HOMA%S, e HOMA%B (Matthews et al., 1985; Radikova et al., 2006; Heald et al., 2007;). Além disso, foi estimado a sensibilidade à insulina no corpo inteiro (índice Matsuda), no território hepático e muscular através da fórmula proposta por Abdul-Ghani et al. (Abdul-Ghani et al., 2007).

4.9. Composição corporal

Os voluntários foram pesados em balança digital. A altura foi determinada na posição em pé, com auxílio de estadiômetro. Essas medidas foram utilizadas para o cálculo do IMC. A composição corporal, incluindo massa magra, massa gorda e porcentagem de gordura foram avaliadas por meio de absorpciometria por dupla fonte de raio-X (DXA) no Laboratório de Metabolismo Ósseo da Disciplina de Reumatologia da FMUSP, usando o equipamento iDXA (GE Lunar Sistemas Médicos, Madison, WI).

4.10. Biópsia muscular por agulha de sucção

As biópsias foram realizadas na enfermaria do Serviço de Reumatologia do HCFMUSP/SP. Os (as) voluntários (as) foram submetidos à biópsia muscular por agulha de sucção (agulha de *Bergström*: ANVISA - Registro 10287070068) da porção média do músculo vasto lateral da coxa. Esse procedimento foi realizado pela manhã após 8 horas de jejum e permitiu obter uma amostra de aproximadamente 80 mg da porção média do músculo vasto lateral da coxa.

Os voluntários foram orientados a deitar-se em uma maca, mantendo os joelhos estendidos e a musculatura relaxada. A seguir, foi realizada antisepsia da coxa direita e administrada 2 mL de xilocaína a 2%, sem vasoconstritor, para anestesia local. A aplicação do anestésico foi feita com agulhas hipodérmicas descartáveis, de forma subcutânea. Após anestesia local, foi realizada uma incisão cutânea para a introdução da agulha de biópsia no tecido muscular. Para tanto, foi utilizada lâmina de bisturi nº 11, esterilizada, individual e

descartável para realizar a incisão de aproximadamente 0,5 cm de extensão. A incisão cortou a pele e a fáscia muscular. A agulha de biópsia, esterilizada e de uso individual, foi então inserida através do orifício gerado pela incisão. Após uma sucção, aplicada na extremidade superior externa da agulha por uma seringa de 60 mL, uma pequena amostra de músculo foi succionada para o interior da agulha e cortada pela lâmina interna da agulha.

Após a retirada da agulha, foi aplicada pressão sobre o ponto de incisão para prevenir sangramento. A incisão será fechada com bandagem esterilizada e coberta com uma pequena atadura para prevenir o seu desprendimento. Os voluntários foram instruídos a manter a bandagem limpa e seca pelo período de 24 horas.

4.11. Análise histológica do músculo esquelético

Cerca de 20 mg de amostra de músculo esquelético foram cuidadosamente dissecadas, livre de sangue e tecido gorduroso visível, rapidamente congelada em isopentano resfriado em nitrogênio líquido à - 176°C e acrescentado Tissue-Tek®.

Técnicas padronizadas de rotina foram empregadas no manuseio de biópsias musculares. Foram realizados cortes histológicos transversais (espessura de 4 µm) que foram corados com hematoxilina-eosina (H&E), tricotômico de Gomori, ATPases ácida (pH 4.3) e básica (pH 9.4) e *Oil red O* (ORO) (Koopman et al., 2001).

A captura de imagens foi realizada em computador acoplado a um microscópio e conectado a um sistema fotográfico (magnificação de 40x e 200x). A análise quantitativa da área de secção transversa e da proporção dos diferentes tipos de fibras musculares e área coberta por lipídios nas fibras musculares foi realizada por meio do programa *ImageJ*. Os resultados estão expressos em µm². As quantificações foram realizadas no Laboratório de Miopatias Inflamatórias da Disciplina de Reumatologia (FMUSP/SP).

4.12. Sequenciamento gênico em larga escala do músculo esquelético (RNA-seq)

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

A análise do transcriptoma foi realizada com o kit QuantSeq 3'mRNA Seq (Lexogen, Viena, Áustria), de acordo com as recomendações do fabricante. As bibliotecas de biópsias

musculares foram preparadas usando 300 ng de RNA total e reunidas e quantificadas por qRT-PCR usando o Kapa Library Quantification Kit (Kapa Biosystems, Wilmington, MA). O sequenciamento foi realizado em um sistema NextSeq 500 (Illumina, San Diego, CA, EUA) com uma execução de extremidade única de 75 ciclos no núcleo SELA da faculdade de medicina da Universidade de São Paulo. O sequenciamento gerou uma média de 5 milhões de leituras por amostra. A análise do controle de qualidade foi realizada pelo software FASTQC. As leituras brutas foram alinhadas ao hg38 através do software STAR (Dobin et al., 2003). A quantificação dos dados de expressão gênica foi realizada através do software *Feature Counts* (Li et al., 2011; Liao et al., 2014) e os dados (contagens por milhão, CPM) foram transformados em *log* e normalizados (Liao et al., 2014).

4.13. Treinamento físico

As sessões de treinamento físico supervisionado ocorreram duas vezes por semana, por doze semanas e foram diretamente supervisionadas por um profissional de educação física (para assegurar a intensidade e duração do exercício físico) e por um médico reumatologista (para reportar eventos adversos). O local de treinamento foi no LACRE do Serviço de Reumatologia (HCFMUSP/SP).

O programa de treinamento físico foi composto por exercícios de força e aeróbio. A sessão de exercício teve início com o treinamento de força, envolvendo exercícios que contemplam os grandes grupos musculares, com três séries de 8 - 12 repetições por exercício e intervalo de 60 segundos entre as séries. A sessão de treinamento de força foi composta por 5 exercícios em máquinas (*leg press* horizontal, supino, cadeira extensora, puxada frontal, remada sentada, cadeira flexora) e 1 exercício utilizando o peso corporal como carga de treinamento (exercício abdominal com flexão de joelhos). A progressão da carga de cada exercício foi controlada por meio de repetições máximas, sendo que, a partir do momento em que o paciente estivesse apto a realizar um número de repetições maior que 12, a carga era incrementada. A duração do treinamento de força foi de aproximadamente 30 minutos.

Logo em seguida ao treinamento de força, ocorria o início do treinamento aeróbio, que era composto por caminhada/corrida em esteira ergométrica. A intensidade foi determinada por teste ergoespiométrico e correspondia ao intervalo da frequência cardíaca entre o LAV e o PCR. À medida que houvesse adaptação à carga de treinamento, os pacientes eram incentivados a aumentar a intensidade, aproximando-a do PCR. O controle da intensidade foi realizado pela frequência cardíaca, com auxílio de frequencímetros da marca Polar® e pela escala de Borg de

percepção subjetiva de esforço (Borg et al., 1985). A duração do treinamento aeróbio foi de 40 minutos até a quarta semana, a partir da qual houve incremento para 50 minutos por sessão. A partir da oitava semana houve incremento para 60 minutos até a décima segunda semana. Por fim, a sessão foi finalizada com 5 minutos de exercícios de flexibilidade (alongamento estático).

De maneira a verificar a aderência presencial dos voluntários as sessões de treinamento físico, foi solicitado o preenchimento de lista de presença a cada sessão de treinamento.

4.13. Análise estatística

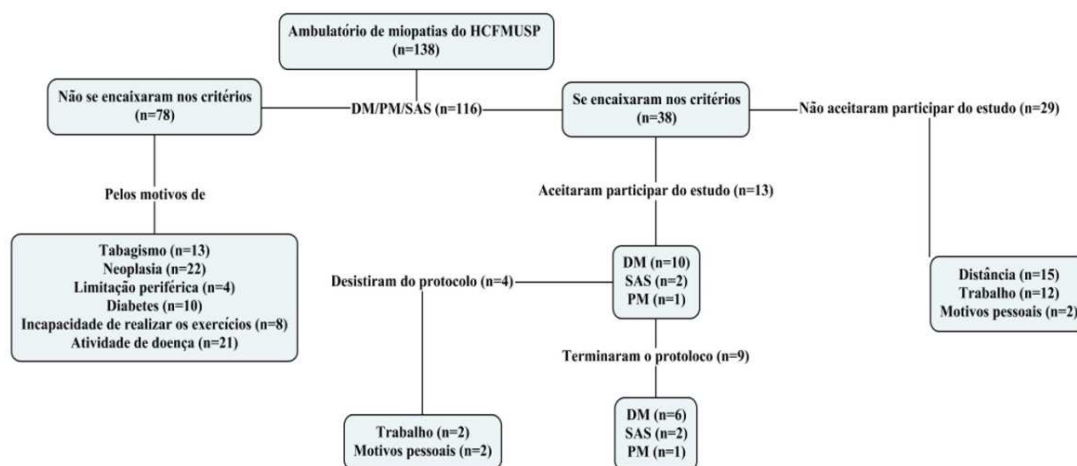
Os dados estão apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A normalidade dos dados foi testada pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Na primeira parte do estudo (análise transversal) para as variáveis que apresentaram distribuição normal, um teste t de *student* para amostras independentes foi utilizado, enquanto que para as variáveis que não apresentaram distribuição normal o teste não paramétrico de *Mann-Whitney U* foi utilizado. Na segunda parte do estudo (treinamento físico) um teste t de *student* para amostras dependentes foi utilizado para as variáveis com distribuição normal e o teste não paramétrico de Wilcoxon para as variáveis que não apresentaram distribuição normal. Para analisar a magnitude da intervenção, o tamanho do efeito (ES) foi calculado usando o *Cohen's d*. A análise dos dados foi realizada utilizando o SPSS, versão 17.0 para Windows. O nível de significância foi estabelecido em $P \leq 0,05$.

RESULTADOS

5. Resultados

Dos 138 pacientes iniciais com MAS, 116 pacientes apresentavam o diagnóstico de DM, PM ou SAS. Desses 116 pacientes, 38 preencheram os critérios de inclusão e exclusão. Desses 38 pacientes, 13 pacientes aceitaram participar do protocolo de pesquisa, contudo, quatro pacientes desistiram durante o período do protocolo por motivos pessoais e de trabalho; portanto, nove pacientes completaram o estudo. A **Figura 3** abaixo simplifica o fluxograma dos pacientes. O grupo CTRL foi selecionado por conveniência e de acordo com a facilidade para participar do projeto, sendo a maioria composta por funcionários do HCFMUSP/SP e acompanhantes dos pacientes.

Figura 3: Fluxograma dos pacientes



DM: dermatomiosite; PM: polimiosite; SAS: síndrome antissintetase.

5.1. Características dos pacientes e do grupo controle

As características gerais, *status* da doença e as medicações dos pacientes do grupo MAS estão apresentados na **Tabela 1**. A idade e a distribuição do gênero foram pareadas entre o grupo MAS e o grupo controle. Seis pacientes apresentavam diagnóstico de DM, dois pacientes de SAS, e um paciente de PM, e o tempo médio entre o diagnóstico da doença e o início do estudo foi de $8,4 \pm 4,5$ anos. Os dados do IMACS dos pacientes sugerem que os pacientes apresentavam remissão clínica da doença. Um paciente fazia uso de prednisona (5 mg) enquanto todos pacientes faziam uso de no mínimo um imunossupressor.

A **Tabela 2** mostra laboratoriais perfil lipídico e a composição corporal dos pacientes do grupo MAS e grupo CTRL. Não foram encontradas diferenças significativas nesses parâmetros entre os dois grupos ($P > 0,05$).

Tabela 1: Características, status da doença, e medicações do grupo MAS e do grupo CTRL

	MAS (n=9)	CTRL (n=10)	P
Características gerais			
Idade (anos)	46,7±7,8	48,7±3,9	0,567
Sexo feminino (%)	6 (66,7)	6 (60,0)	0,976
Duração da doença (anos)	8,4±4,5	-	-
Dermatomiosite (%)	6 (66,7)	-	-
Síndrome antissintetase (%)	2 (22,2)	-	-
Polimiosite (%)	1 (11,1)	-	-
Status da doença			
VAS paciente (0-10 cm)	1,2 [0,0-1,8]	-	-
VAS médico (0-10 cm)	0,4 [0,2-1,8]	-	-
MMT-8 (0-80)	80 [80-80]	-	-
MYOACT (0-60)	0 [0,0-1,0]	-	-
HAQ (0,00-3,00)	0,1 [0,1-1,2]	-	-
Creatinofosfoquinase (U/L)	143 [120-312]	123 [99-172]	0,832
Aspartato aminotransferase (U/L)	18,0 [5,0-24,6]	14,0 [7,0-16,0]	0,345
Alanina aminotransferase (U/L)	19,0 [6,3-22,1]	12,0 [8,0-14,0]	0,429
Desidrogenase láctica (U/L)	199 [173-320]	153 [135-220]	0,198
Medicações			
Prednisona			
Em uso (%)	1 (9,0)	-	-
Dose (mg/dia)	5,0	-	-
Azatioprina (%)	1 (11,1)	-	-
Metotrexato (%)	2 (22,2)	-	-
Micofenolato de mofetila (%)	6 (66,7)	-	-

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão ou mediana [Percentil 25 – Percentil 75]. CTRL: grupo controle; HAQ: *Health Assessment Questionnaire*; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; MAS: miopatias autoimunes sistêmicas; MMT: *Muscle Manual Test*; MYOACT: *Myositis Disease Activity Assessment Analogue Scale*; VAS: *Visual Analogic Scale*.

Tabela 2: Perfil lipídico e composição corporal do grupo MAS e do grupo CTRL

	MAS (n=9)	CTRL (n=10)	<i>P</i>
Parâmetros laboratoriais			
Colesterol total (mg/dL)	181,6±145,3	202,1±25,1	0,149
LDL-colesterol (mg/dL)	109,8±24,1	126,0±22,0	0,181
HDL-colesterol (mg/dL)	45,5±11,0	54,0±24,2	0,314
Triglicerídeos (mg/dL)	134,3±40,5	134,3±50,4	0,999
Composição corporal			
Massa gorda (kg)	29,8±7,7	29,0±9,6	0,708
Percentual de gordura (%)	35,8±7,7	36,8±6,8	0,977
Massa livre de gordura (kg)	51,3±10,9	51,7±8,5	0,502
Peso (kg)	83,1±14,5	83,2±13,2	0,840
Índice de massa corporal (kg/ m ²)	32,1±2,3	30,2±3,2	0,448
Massa total (kg)	83,3±14,7	82,7±14,1	0,616

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão.

CTRL: controles; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; MAS: miopatias autoimunes sistêmicas.

5.2. Avaliação dos parâmetros de resistência insulínica e de células beta pancreáticas dos pacientes do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle

A **Tabela 3** mostra os parâmetros de RI e de células betas dos dois grupos do estudo. Diferentemente do esperado, não foram encontradas diferenças significativas nos parâmetros de RI e de células beta pancreáticas entre os dois grupos. Da mesma forma, não houve diferença significativa nas curvas de glicose, insulina e peptídeo-C em resposta ao TOTG entre os grupos (**Tabela 3, Figura 4**).

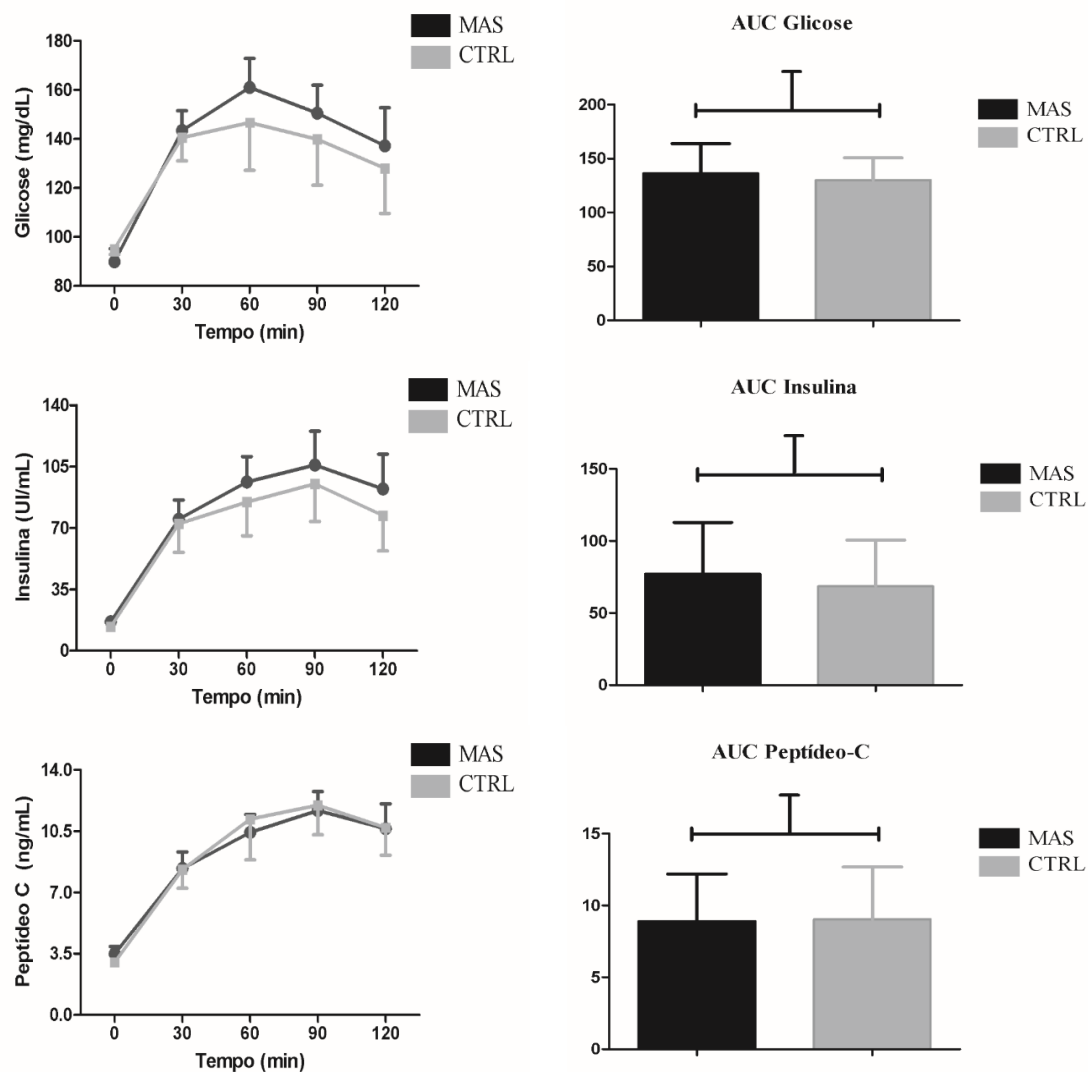
Tabela 3: Glicemia, insulinemia, peptídeo-C basal e parâmetros de RI e de função das células beta pancreáticas dos pacientes do grupo MAS e grupo CTRL

	MAS (n=9)	CTRL (n=10)	P
Glicose basal (mg/dL)	89,9±16,1	96,0±6,7	0,305
Insulina basal (U/L)	16,5±7,9	14,7±4,6	0,551
Peptídeo-C basal (ng/mL)	3,7±1,0	3,3±0,7	0,294
Parâmetros de RI e função de células beta pancreáticas			
HOMA1 RI ($\leq 1,6$)	3,7±1,8	3,5±1,2	0,802
HOMA2 RI ($\leq 1,45$)	2,1±1,0	2,0±0,7	0,774
HOMA2 %B (≤ 175)	165,4±58,9	122,8±28,7	0,069
HOMA2 %S ($\geq 68,9$)	57,0±23,9	55,3±25,8	0,881
Índice Matsuda ($\geq 2,5$)	3,3±2,2	3,9±3,4	0,683
Índice insulinogênico ($\geq 0,4$)	1,1±0,5	3,2±6,0	0,321
AUC glicose (TOTG)	136,4±27,5	130,0±20,6	0,594
AUC insulina (TOTG)	77,1±35,7	68,6±14,1	0,834
AUC Peptídeo-C (TOTG)	8,9±3,3	9,0±1,6	0,839

Os resultados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão.

AUC: área abaixo da curva; CTRL: controles; HOMA: modelo de avaliação da homeostase; MAS: miopatias autoimunes sistêmicas; RI: resistência à ação da insulina; TOTG: teste oral de tolerância a glicose.

Figura 4: Curvas de glicose, insulina e peptídeo-C em resposta ao teste oral de tolerância a glicose nos pacientes do grupo MAS e grupo CTRL



AUC: área abaixo da curva.

5.3. Avaliação da potência aeróbia dos pacientes do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle

Os dados de potência aeróbia do grupo MAS e grupo CTRL se encontram na **Tabela 4**. Os pacientes do grupo MAS apresentaram uma importante diminuição na potência aeróbia, demonstrado por um menor VO₂ máximo absoluto, menor VO₂ máximo relativo, e menor tempo até atingir o LAV, PCR e exaustão.

Tabela 4: Potência aeróbia do grupo MAS e grupo CTRL

	MAS (n=9)	CTRL (n = 10)	P
Potência aeróbia			
VO ₂ max (L/min)	1,5±0,4	2,2±0,4	0,011
VO ₂ max (mL/kg/min)	18,5±4,1	26,1±4,0	0,052
Tempo até atingir o LAV (min)	4,8±0,9	5,9±0,9	0,034
Tempo até atingir o PCR (min)	9,1±1,3	11,5±2,3	0,039
Tempo até atingir a exaustão (min)	10,6±2,1	13,9±2,3	0,014

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão.

CTRL: controle; LAV: limiar anaeróbio ventilatório; MAS: miopatias autoimunes sistêmicas; PCR: ponto de compensação respiratória; VO₂ máx: consumo de oxigênio máximo.

5.4. Avaliação da força e função muscular dos pacientes do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle

A avaliação da força e função muscular demonstrou que mesmo os pacientes do grupo MAS apresentando valores máximo no MMT-80 (o que sugere uma força muscular normal), quando comparado os testes funcionais e musculares entre os os dois grupos, os pacientes do grupo MAS apresentavam um importante prejuízo nessas variáveis (**Tabela 5**). O grupo MAS apresentou uma menor força muscular em membros inferiores (no exercício *leg press*) e nos membros superiores (no exercício supino), sem diferenças significativas para força isométrica (*handgrip*). Além disso, os pacientes apresentaram um menor número de repetições no exercício de sentar e levantar e maior tempo no exercício de levantar e caminhar.

Tabela 5: Força e função muscular do grupo MAS e grupo CTRL

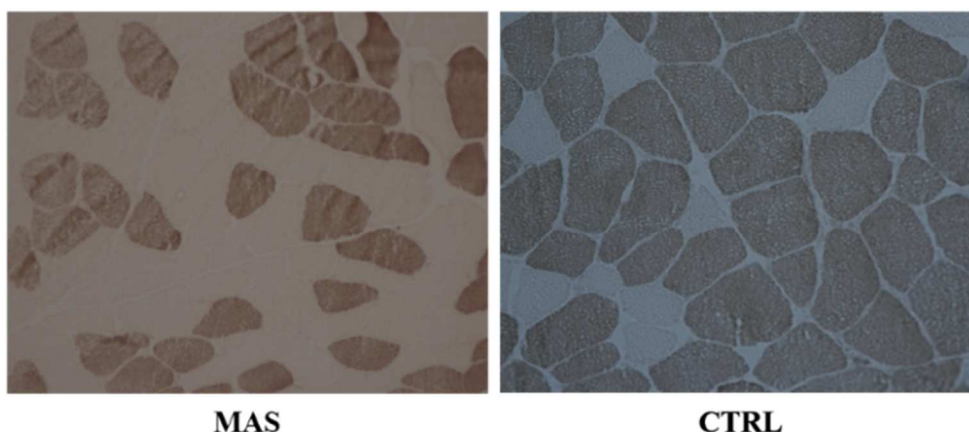
	MAS (n=9)	CTRL (n=10)	P
Força e função muscular			
1 RM leg press (kg)	71,7±14,8	87,2±13,5	0,046
1 RM supino (kg)	28,6±9,6	38,0±8,7	0,055
Hand grip (kg)	24,0±9,5	27,8±4,9	0,367
Teste de sentar e levantar (n)	13,9±2,8	16,4±1,9	0,044
Teste de levantar e caminhar (s)	7,3±1,1	5,7±0,6	0,017

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão.

CTRL: controles; RM: repetição máxima.

5.5. Avaliação da área de secção transversal e proporção dos tipos de fibra I e tipo de fibra II entre o grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle

Os pacientes do grupo MAS apresentavam uma menor área de secção transversal (AST) de fibras do tipo I e fibras do tipo II quando comparado ao grupo CTRL (**Figura 5 e Figura 6A**). Além disso, os pacientes do grupo MAS apresentavam uma maior proporção de fibras do tipo II, e menor proporção de fibras do tipo I comparado ao grupo CTRL (**Figura 6B**).

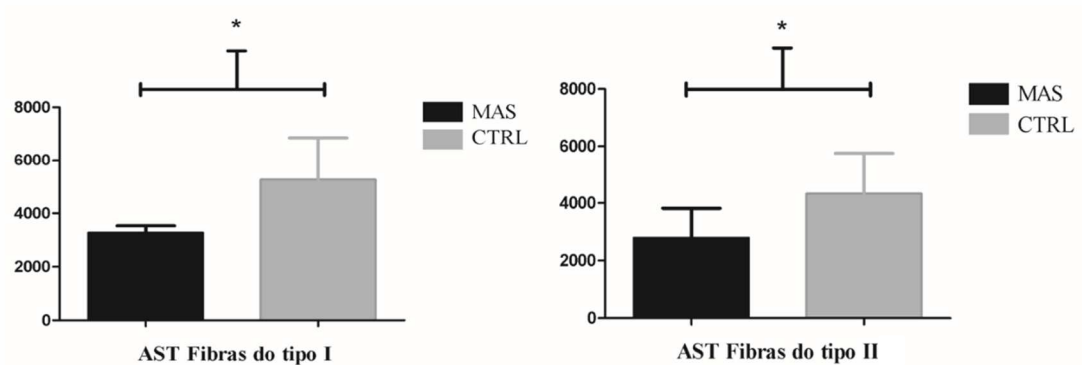
Figura 5: Tipologia de fibras do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle

Reação histoquímica para ATPase em pH ácido: 4.3. Magnitude: 200x

CTRL: grupo controle; MAS: miopatias autoimunes sistêmicas.

Figura 6: Análise quantitativa da área de secção transversal (A) e da proporção dos tipos de fibras musculares (B) do grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle

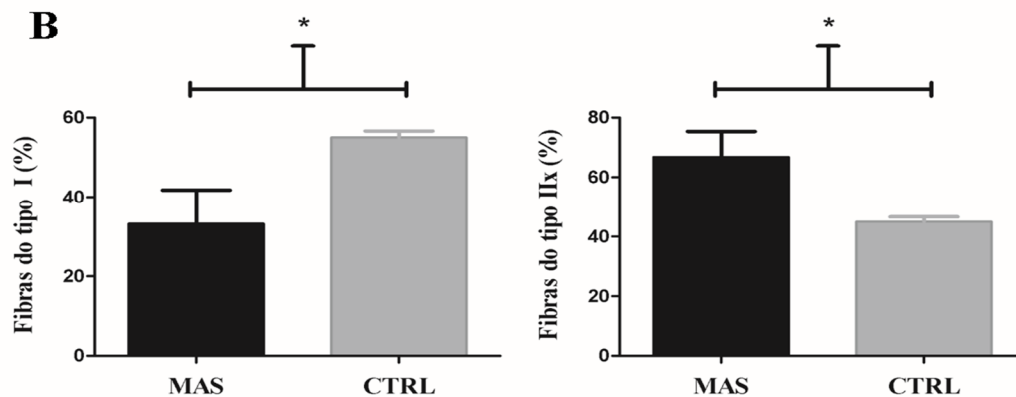
A



AST: área de secção transversal; CTRL: grupo controle; MAS: miopatias autoimunes sistêmicas.

* $P < 0,05$

B



CTRL: grupo controle; MAS: miopatias autoimunes sistêmicas.

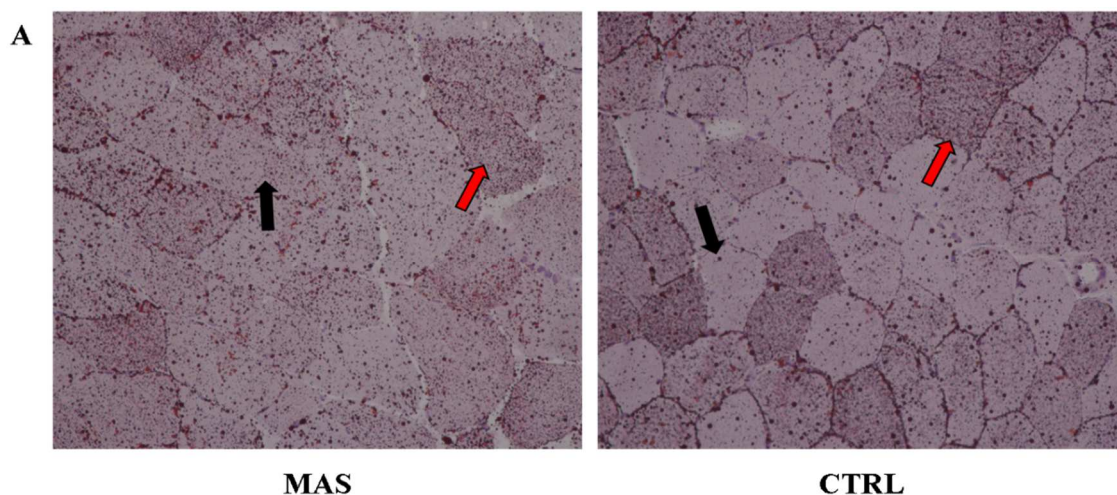
* $P < 0,05$

5.6. Avaliação e comparação do conteúdo lipídico intramuscular de fibras musculares do tipo I e do tipo II nos dois grupos do estudo

A **Figura 7** mostra a análise do conteúdo de lipídios intramusculares, analisada pela marcação de *Oil red O*. A análise quantitativa do conteúdo de lipídios intramusculares das fibras musculares do tipo I não apresentou diferença entre os dois grupos ($P > 0,05$). Em relação ao

tipo de fibras II, os pacientes do grupo MAS apresentam um maior conteúdo lipídico nessas fibras comparado ao grupo CTRL (**Figura 7 e Figura 8**).

Figura 7: Conteúdo lipídico intramuscular nas fibras musculares do tipo I e do tipo II dos grupos miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle

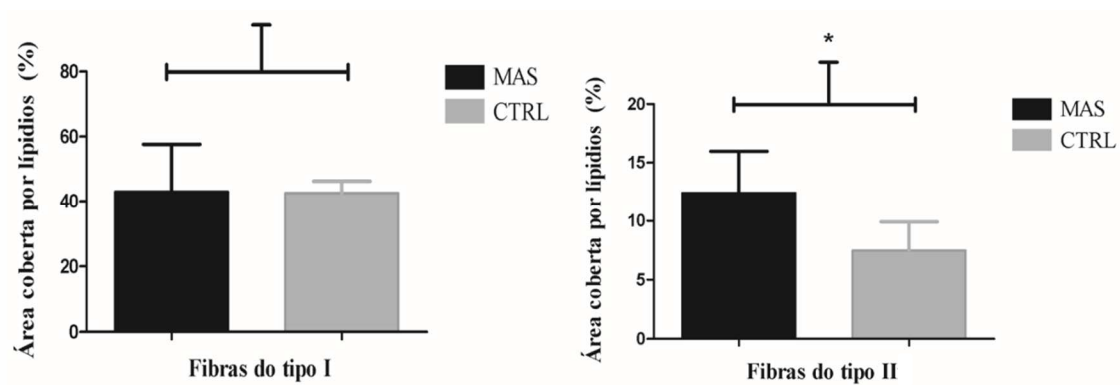


CTRL; grupo controle; MAS: miopatias autoimunes sistêmicas.

Setas em vermelho: fibras do tipo I. Setas em preto: fibras do tipo II.

Coloração de *Oil red O*. Magnitude: 200x

Figura 8: Análise quantitativa do conteúdo lipídico dos pacientes com grupo miopatias autoimunes sistêmicas e grupo controle



CTRL: grupo controle; MAS: miopatias autoimunes sistêmicas.

5.7. Treinamento físico

5.7.1. Características dos pacientes

As características, *status* da doença, e medicações dos pacientes submetidos ao treinamento se encontram na **Tabela 6**. Os dados dos questionários e enzimas musculares dos pacientes, não tiveram alteração após o treinamento físico, sugerindo que o treinamento físico não alterou negativamente a doença. Em relação às medicações, todas foram mantidas durante o período de treinamento.

Após o treinamento físico, não foram encontradas alterações significativas nos parâmetros laboratoriais dos pacientes. Entretanto, houve uma diminuição significativa na massa gorda e no percentual de gordura (**Tabela 7**).

A aderência dos pacientes ao treinamento foi alta (98%).

Tabela 6: Características, *status* da doença dos pacientes submetidos ao programa de treinamento físico

	Pré (n=9)	Pós (n=9)	P	ES
Características				
Idade (anos)	46,7±7,8	-	-	-
Sexo feminino (%)	6 (66,7)	-	-	-
Status da doença				
EVA paciente (0-10 cm)	1,2 [0,0-1,8]	0.0 [0,0-0,0]	0,160	1,08
EVA médico (0-10 cm)	0,4 [0,2-1,8]	0.0 [0,0-0,0]	0,363	0,57
MMT-8 (0-80)	80 [80-80]	80 [80-80]	0,999	-
MYOACT (0-60)	0 [0,0-1,0]	0 [0-0]	0,241	0,78
HAQ (0,00-3,00)	0,1 [0,1-1,2]	0.4 [0,1-1,4]	0,659	0,40
Creatinafosfoquinase (U/L)	143 [120-312]	112 [96-210]	0,453	0,34
Aspartato aminotransferase (U/L)	18 [5-24]	17 [7-23]	0,862	0,09
Alanina aminotransferase (U/L)	19 [6-22]	15 [4-19]	0,536	0,27
Desidrogenase láctica (U/L)	199 [173-320]	159 [165-299]	0,440	0,37

Os resultados estão expressos como porcentagem (%), média ± desvio padrão ou mediana [Percentil 25 – Percentil 75]

ES: tamanho do efeito; CTRL: grupo controle; HAQ: *Health Assessment Questionnaire*; MMT: *Muscle Manual Test*; MYOACT: *Myositis Disease Activity Assessment Analogue Scale*; VAS: *Visual Analogic Scale*.

Tabela 7: Parâmetros laboratoriais e composição corporal dos pacientes submetidos ao programa de treinamento físico

	Pré (n=9)	Pós (n=9)	<i>P</i>	ES
Parâmetros laboratoriais				
Colesterol total (mg/dL)	181,6±145,3	131,7±147,1	0,450	0,34
LDL-colesterol (mg/dL)	109,8±24,1	113,4±24,0	0,827	0,15
HDL-colesterol (mg/dL)	45,5±11,0	42,8±10,2	0,181	0,25
Triglicérides (mg/dL)	134,3±40,5	120,3±50,7	0,172	0,30
Composição corporal				
Massa gorda (kg)	29,8±7,7	28,6±7,7	0,789	0,15
Percentual de gordura (%)	35,8±7,7	34,8±8,3	0,745	0,12
Massa livre de gordura (kg)	51,3±10,9	51,9±12,1	0,502	0,05
Peso (kg)	83,1±14,5	82,0±15,1	0,419	0,07
Índice de massa corporal (kg/m ²)	32,1±2,3	31,7±4,8	0,653	0,09
Massa total (kg)	83,3±14,7	82,7±14,1	0,616	0,04

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão.

ES: tamanho do efeito; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade.

5.7.2. Efeitos do treinamento físico na potência aeróbia dos pacientes com miopatias autoimunes sistêmicas

Em resposta ao treinamento físico, houve melhora significativa na potência aeróbia. Essa melhora foi demonstrada por aumentos no VO₂ máximo relativo, tempo até atingir o ponto de compensação respiratória e tempo até atingir a exaustão, além de uma tendência a melhorar o VO₂ pico absoluto e tempo até atingir o limiar anaeróbio ventilatório (**Tabela 8**).

Tabela 8: Potência aeróbia antes e após o programa de treinamento físico

	Pré (n=9)	Pós (n = 9)	P	ES
Potência aeróbia				
VO ₂ max (L/min)	1,5±0,4	1,7±0,5	0,068	0,44
VO ₂ max (mL/kg/min)	18,5±4,1	20,9±5,2	0,052	0,51
Tempo até atingir o LAV (min)	4,8±0,9	6,0±1,5	0,064	0,44
Tempo até atingir o PCR (min)	9,1±1,3	10,7±1,3	0,001	1,23
Tempo até atingir a exaustão (min)	10,6±2,1	13,2±1,8	0,000	1,33

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão.

ES: tamanho do efeito; LAV: limiar anaeróbio ventilatório; PCR: ponto de compensação respiratória; VO₂ máx: consumo de oxigênio máximo.

5.7.3. Efeitos do treinamento físico na força e função muscular dos pacientes com miopatias autoimunes sistêmicas

Em resposta ao treinamento físico, houve um aumento significativo na força muscular. O aumento na força muscular foi demonstrado por uma maior força na execução do teste de uma repetição máxima no exercício *leg press* e no exercício supino. Além disso, houve melhoras significativas na capacidade funcional, demonstrado por um maior número de repetições no exercício de sentar e levantar e menor tempo no teste de levantar e caminhar (**Tabela 9**).

Tabela 9: Força e função muscular dos pacientes submetidos ao programa de treinamento físico

	Pré (n=9)	Pós (n = 9)	P	ES
Força e função muscular				
1 RM <i>leg press</i> (kg)	71,7±14,8	82,9±14,0	0,013	0,77
1 RM supino (kg)	28,6±9,6	32,3±10,5	0,002	0,37
<i>Hand grip</i> (kg)	24,0±9,5	25,4±11,3	0,253	0,13
Teste de sentar e levantar (n)	13,9±2,8	16,0±3,7	0,002	0,64
Teste de levantar e caminhar (s)	7,3±1,1	6,7±1,1	0,005	0,55

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão.

ES: tamanho do efeito; RM: repetição máxima.

5.7.4. Efeitos do treinamento físico nos parâmetros de resistência insulínica e disfunção de células beta pancreáticas nos pacientes com miopatias autoimunes sistêmicas

Em resposta ao treinamento físico, houve melhoras significativas nos parâmetros relacionados à RI e disfunção de células beta pancreáticas (**Tabela 10**). Após o treinamento, houve uma diminuição significativa nos níveis basais de insulina e peptídeo-C, sem alterações na glicose basal. Em relação aos parâmetros de RI e disfunção de células beta, houve uma diminuição no HOMA2 %S e no índice Matsuda além de uma tendência a diminuir o HOMA2 %B após o treinamento físico. Não foram encontradas diferenças significativas para o HOMA1 RI, HOMA2 RI e índice insulinogênico ($P > 0,05$).

Além disso, após o treinamento físico houve uma importante diminuição na área abaixo da curva (AUC) de insulina e peptídeo-C no teste oral de tolerância à glicose (**Tabela 10**, **Figura 9**), sem alterações na AUC da glicose ($P \geq 0,05$).

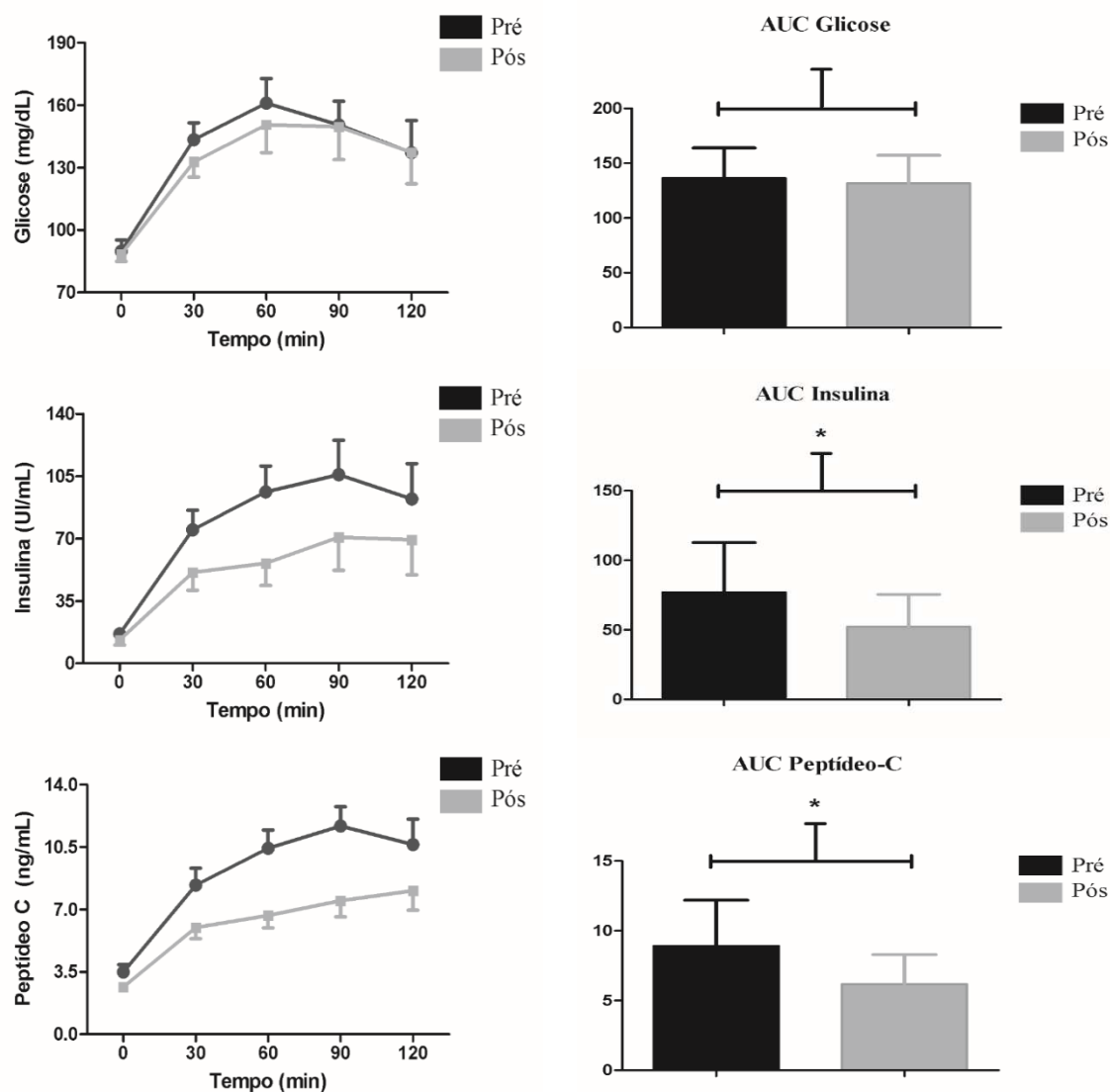
Tabela 10: Glicemia, insulinemia, peptídeo-C basal e parâmetros de resistência insulínica e de função das células beta pancreáticas antes e após o programa de treinamento físico

	Pré (n=9)	Pós (n=9)	P	ES
Glicose basal (mg/dL)	89,9±16,1	90,4±13,6	0,895	0,03
Insulina basal (U/L)	16,5±7,9	11,8±5,5	0,052	0,69
Peptídeo-C basal (ng/mL)	3,7±1,0	2,7±0,6	0,015	1,21
Parâmetros de RI e função de células beta pancreáticas				
HOMA1 RI ($\leq 1,6$)	3,7±1,8	3,0±2,2	0,388	0,35
HOMA2 RI ($\leq 1,45$)	2,1±1,0	1,7±1,1	0,295	0,38
HOMA2 %B (≤ 175)	165,4±58,9	136,5±59,4	0,074	0,49
HOMA2 %S ($\geq 68,9$)	57,0±23,9	83,1±49,7	0,056	0,67
Índice Matsuda ($\geq 2,5$)	3,3±2,2	5,9±4,0	0,032	0,80
Índice insulínogênico ($\geq 0,4$)	1,1±0,5	1,0±0,9	0,678	0,14
AUC glicose (TOTG)	136,4±27,5	131,8±25,5	0,867	0,18
AUC insulina (TOTG)	77,1±35,7	52,1±23,4	0,016	0,78
AUC peptídeo-C (TOTG)	8,9±3,3	6,1±2,1	0,009	1,37

Os resultados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão.

AUC: área abaixo da curva; HOMA: modelo de avaliação da homeostase; RI: resistência à ação da insulina; TOTG: teste oral de tolerância à glicose.

Figura 9: Curvas de glicose, insulina e peptídeo-C em resposta ao teste oral de tolerância a glicose antes e após o treinamento físico



AUC: área abaixo da curva

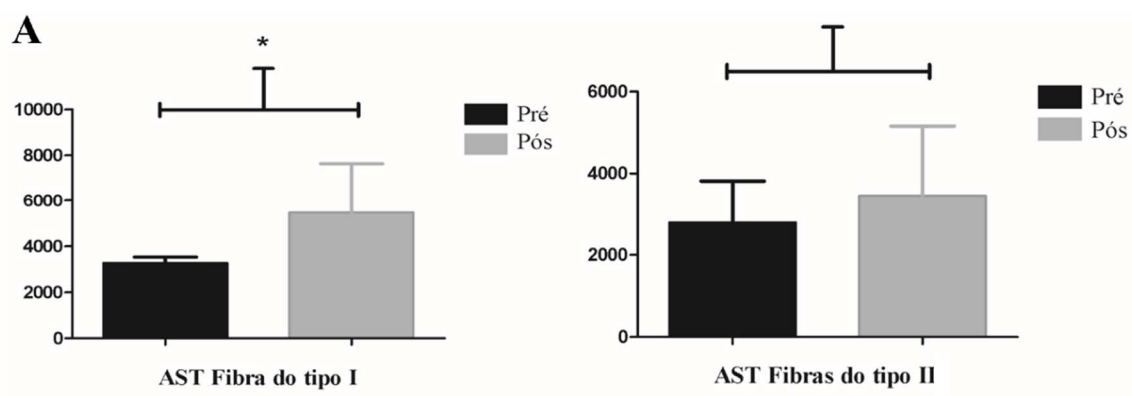
* $P < 0,05$

5.7.5. Efeitos do treinamento físico na área de secção transversal e na proporção dos tipos de fibra I e tipo de fibra II

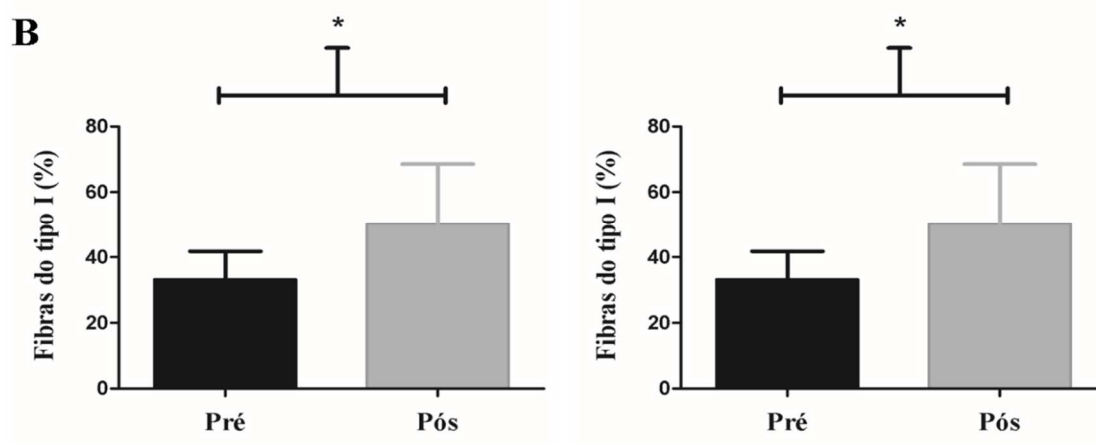
Após o treinamento físico, houve um aumento significativo na área de secção transversal e na proporção de fibras musculares do tipo I (**Figura 10A e 10B**). Em relação às fibras musculares do tipo II, não foram encontradas diferenças em relação a área de secção transversal,

porém, houve uma diminuição na proporção de fibras do tipo II após o treinamento físico (**Figura 10B**).

Figura 10: Análise quantitativa da área de secção transversal (**A**) e da proporção dos tipos de fibras musculares (**B**) do grupo MAS antes e após o treinamento físico



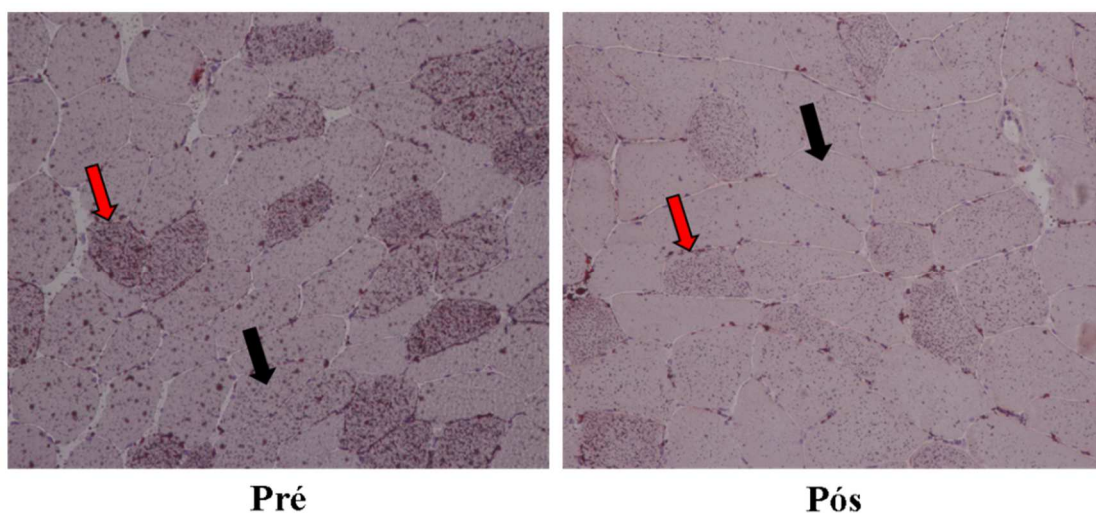
AST: área de secção transversal.



5.7.6. Efeitos do treinamento físico no conteúdo lipídico intramuscular de fibras musculares do tipo I e do tipo II

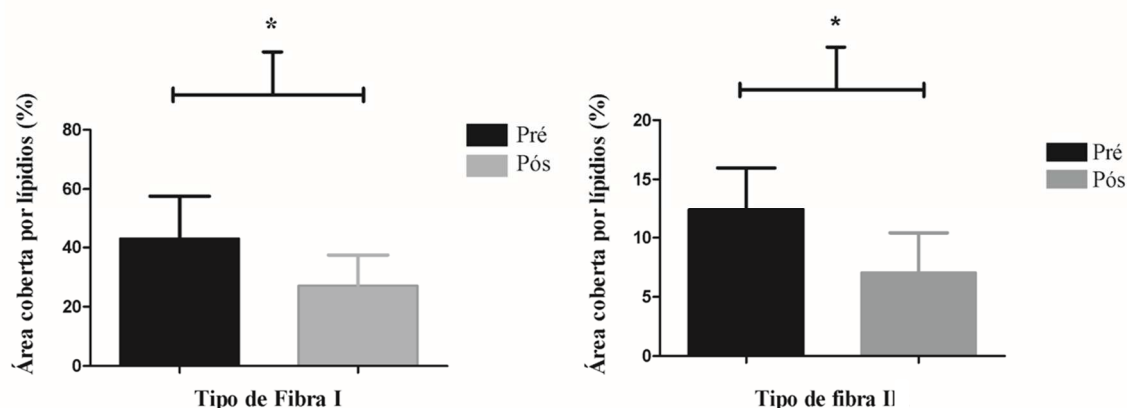
A **Figura 11** mostra a análise do conteúdo de gordura intramuscular, analisada pela coloração de *Oil red O*. A análise quantitativa do conteúdo lipídico intramuscular das fibras musculares do tipo I e do tipo II demonstrou que após o treinamento físico, houve uma queda importante no conteúdo de lipídios intramusculares, tanto para as fibras musculares do tipo I como para as fibras musculares do tipo II (**Figura 12**).

Figura 11: Conteúdo lipídico intramuscular nas fibras musculares do tipo I e do tipo II dos pacientes antes e após o treinamento físico.



Setas em vermelho: fibras musculares do tipo I. Setas em preto: fibras do tipo II.
Coloração de *Oil red O*. Magnitude: 200x.

Figura 12: Análise quantitativa do conteúdo lipídico nas fibras do tipo I e do tipo II antes e após o treinamento físico



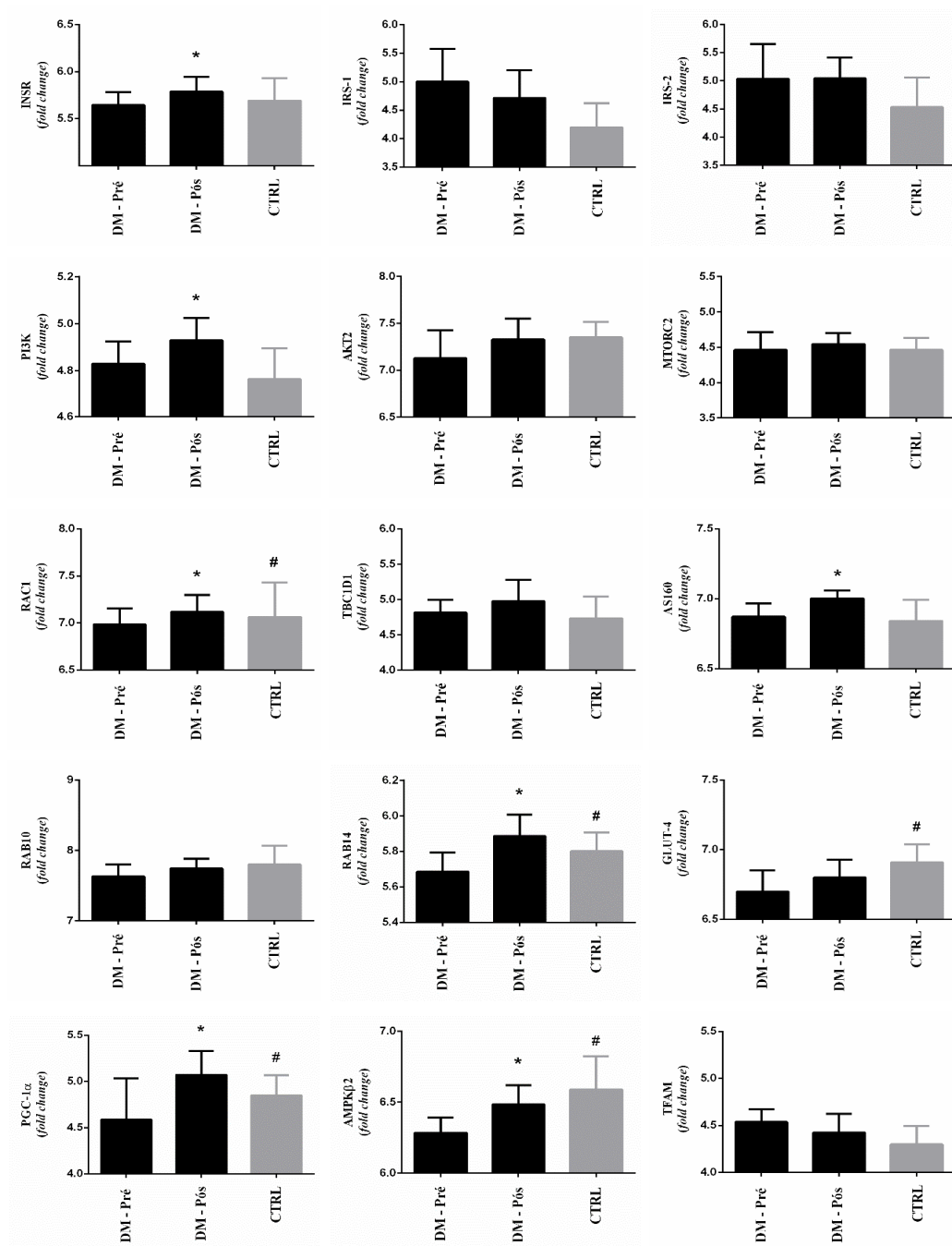
5.7.7. Análise da expressão gênica do músculo esquelético antes e após o programa de treinamento físico

A análise da expressão gênica pelo RNA-seq do músculo esquelético demonstrou que diversos genes relacionados às vias, como a de insulina, oxidação lipídica, autofagia, estresse oxidativo e ubiquitina-proteassoma, estavam alterados no grupo MAS, quando comparadas às do CTRL. O grupo CTRL apresentou uma maior expressão de genes relacionados a via da insulina [*INSR* ($P=0,043$), *RAC1* ($P=0,025$), *RAB14* ($P=0,010$), *GLUT-4* ($P=0,031$)] (**Figura 13 e 14**), oxidação lipídica [*AMPK β 2* ($P=0,043$), *PGC1- α* ($P=0,051$)] (**Figura 13 e 14**), autofagia [*ATG4D* ($P=0,043$), *TFEB* ($P=0,044$)] (**Figura 15 e 18**) e antioxidantes [*GSTP1* ($P=0,043$)] (**Figura 17 e 18**), quando comparada ao grupo MAS, enquanto genes relacionados a via da ubiquitina-proteassoma [*USP15* ($P=0,050$), *USP16* ($P=0,035$), *USP47* ($P=0,006$), *UBE2E1* ($P=0,030$), *PSMD1* ($P=0,001$) e *RPN2* ($P=0,012$)] estavam menos expressos no grupo CTRL (**Figura 16 e 18**).

Em resposta ao treinamento físico, houve um aumento na expressão de genes relacionados a via da insulina [*INSR* ($P=0,038$), *PI3K* ($P=0,045$), *RAC1* ($P=0,032$), *AS160* ($P=0,026$), *RAB14* ($P=0,041$)] (**Figura 13 e 14**), oxidação lipídica [*AMPK β 2* ($P=0,000$), *PGC1- α* ($P=0,050$)] (**Figura 13 e 14**), autofagia [*TFEB* ($P=0,002$), *WIPI2* ($P=0,009$), *EIF24* ($P=0,026$), *FOXO-1* ($P=0,025$), *LAMP2* ($P=0,017$)] (**Figura 15 e 18**), fusão mitocondrial [*MFN1* ($P=0,051$)] (**Figura 15 e 18**) e antioxidantes [*GSTZ1* ($P=0,023$), *GSTP1* ($P=0,054$), *IDH2* ($P=0,026$)] (**Figura 17 e 18**), enquanto genes relacionados a via da ubiquitina-proteassoma [*USP15*

($P=0,025$), USP16 ($P=0,008$), USP34 ($P=0,022$), USP47 ($P=0,053$), UBE2EI ($P=0,008$), PSMD1 ($P=0,005$), PSMD7 ($P=0,003$), PSMC3 ($P=0,005$), PSMD8 ($P=0,003$), RPN2 ($P=0,001$) (**Figura 16 e 18**)] tiveram sua expressão diminuída.

Figura 13: Análise da expressão de genes (RNA-seq) relacionados à via de insulina e oxidação lipídica

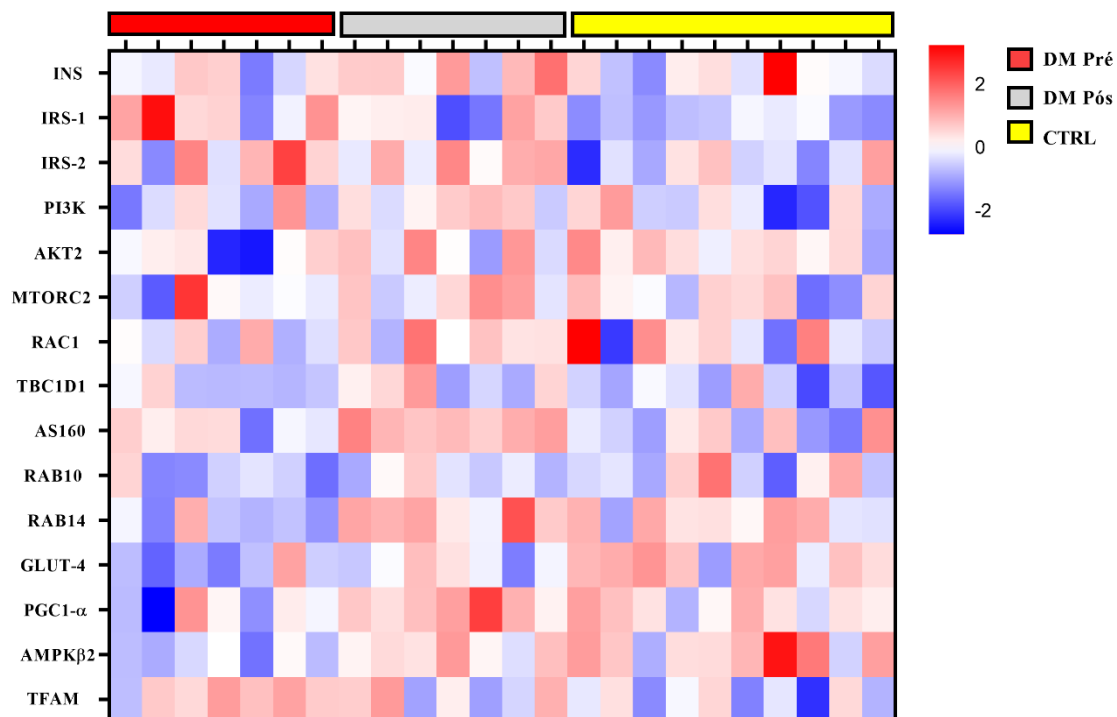


Valores apresentados em média $\pm$ desvio padrão.

* Diferença estatística ($< 0,05$) entre o momento pré e o pós treino.

Diferença estatística entre o grupo DM e CTRL.

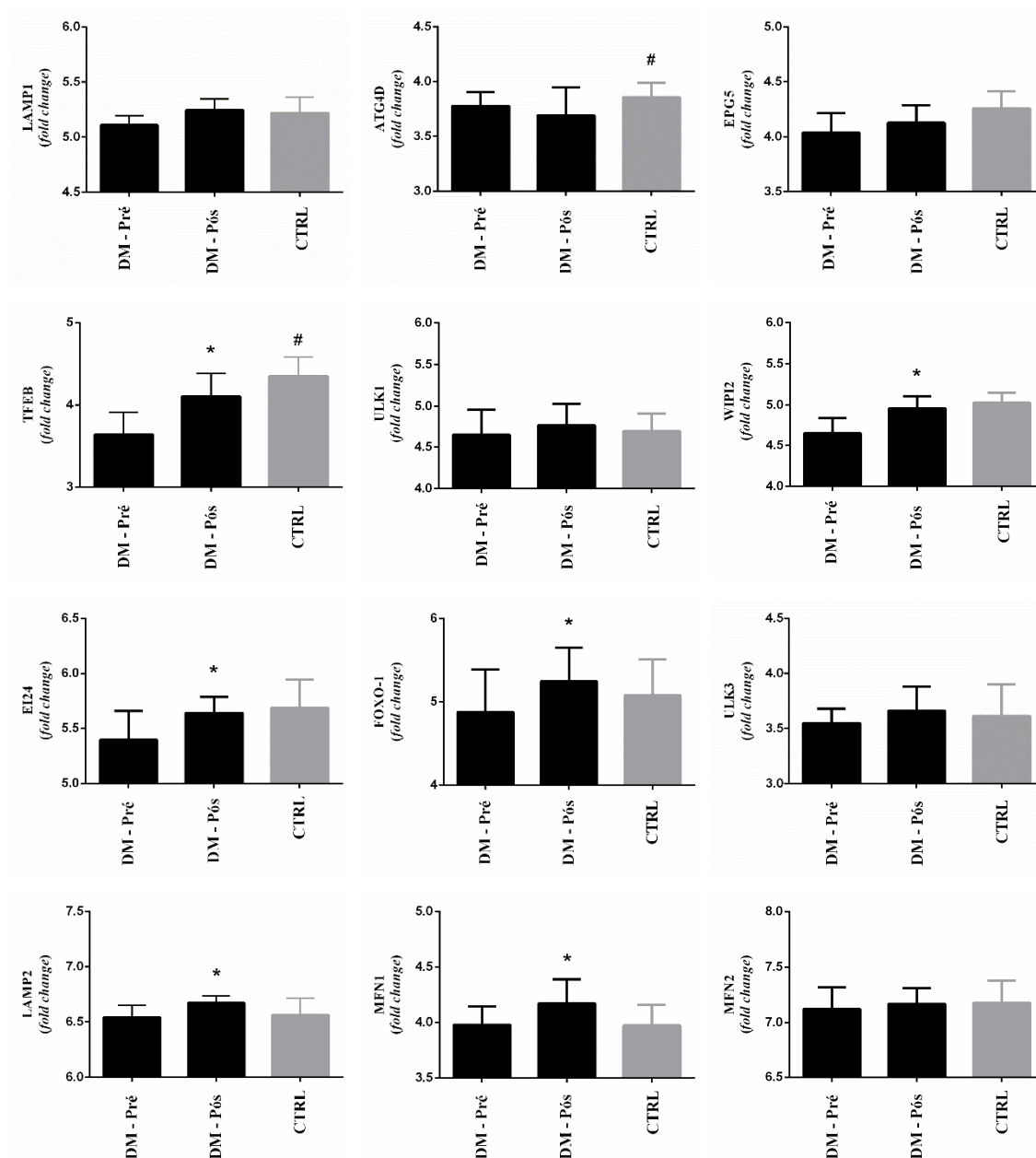
Fold change: percentual de mudança; *INSR*: insulin receptor; *IRS*: insulin receptor soluble; *PIK3*: phosphoinositide 3-kinase; *AKT2*: protein kinase beta 2; *MTORC2*: mTOR complex 2; *RAC1*: Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1; *TBC1D1*: TBC1 domain family member 1; *AS160*: AKT substrate of 160 kDa; *RAB*: Ras-related protein Rab; *GLUT-4*: glucose transporter-4; *PGC1-α*: peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha; *AMPKβ2*: AMP-activated protein kinase beta 2; *TFAM*: mitochondrial transcription factor A.

Figura 14: Heat map dos genes da via de insulina e oxidação lipídica

Em vermelho: maior expressão do gene; em azul: menor expressão do gene.

INSR: insulin receptor; *IRS*: insulin receptor soluble; *PI3K*: phosphoinositide 3-kinase; *AKT2*: protein kinase beta 2; *MTORC2*: mTOR complex 2; *RAC1*: Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1; *TBC1D1*: TBC1 domain family member 1; *AS160*: AKT substrate of 160 kDa; *RAB*: Ras-related protein; *GLUT-4*: glucose transporter-4; *PGC1- α* : peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha; *AMPK β 2*: AMP-activated protein kinase beta 2; *TFAM*: mitochondrial transcription factor A.

Figura 15: Análise da expressão de genes (RNA-seq) relacionados a via de autofagia, biogênese lisossomal e fusão mitocondrial



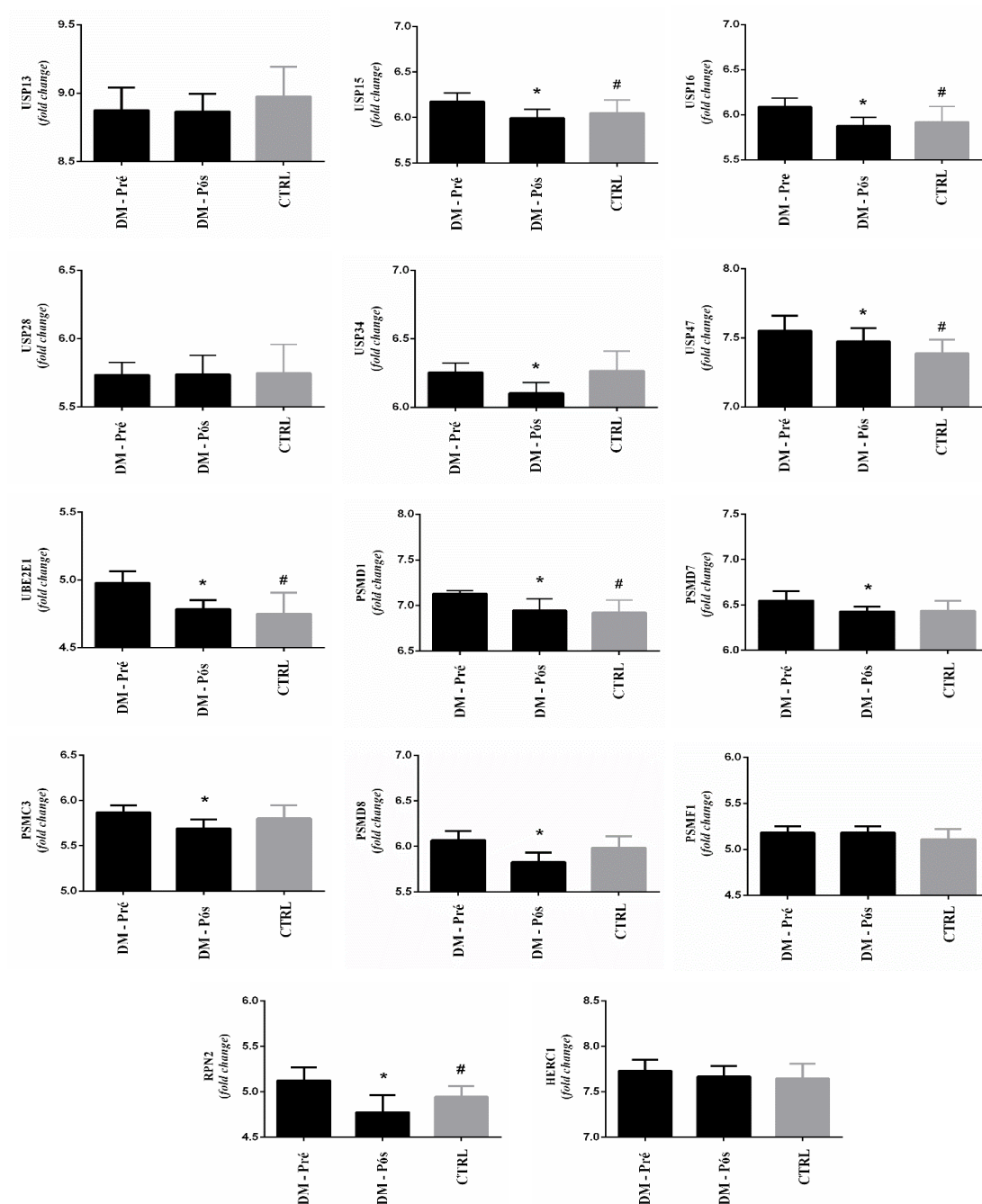
Valores apresentados em média $\pm$ desvio padrão.

* Diferença estatística ($< 0,05$) entre o momento pré e o pós treino.

Diferença estatística entre o grupo DM e CTRL.

Fold change: percentual de mudança; *LAMP*: lysosomal-associated membrane protein; *ATG4D*: autophagy related 4D cysteine peptidase; *EPG5*: ectopic P-granules autophagy protein 5 homolog; *TFEB*: transcription factor EB; *ULK1*: unc-51 like autophagy activating kinase 1; *WIPI2*: WD repeat domain phosphoinositide-interacting protein 2; *EI24*: etoposide-induced protein 24; *FOXO-1*: forkhead box protein O1; *ULK3*: unc-51 like autophagy activating kinase 1; *MFN*: mitofusion.

Figura 16: Análise da expressão de genes (RNA-seq) relacionados a via da ubiquitina-proteassoma

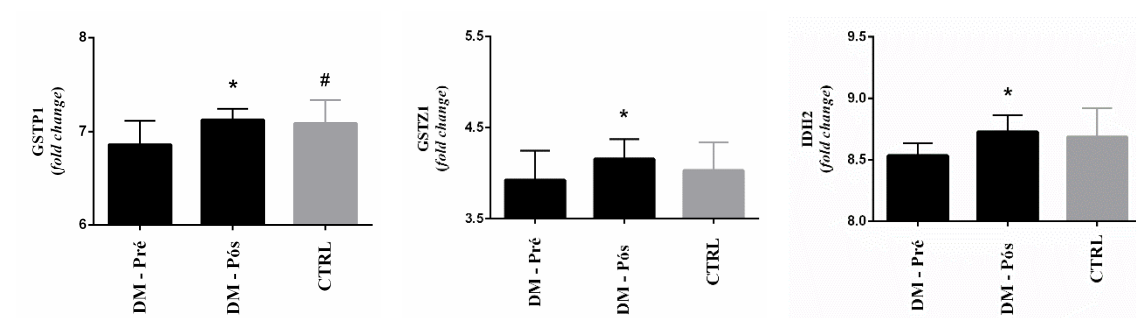


Valores apresentados em média $\pm$ desvio padrão.

* Diferença estatística ($<0,05$) entre o momento pré e o pós treino.

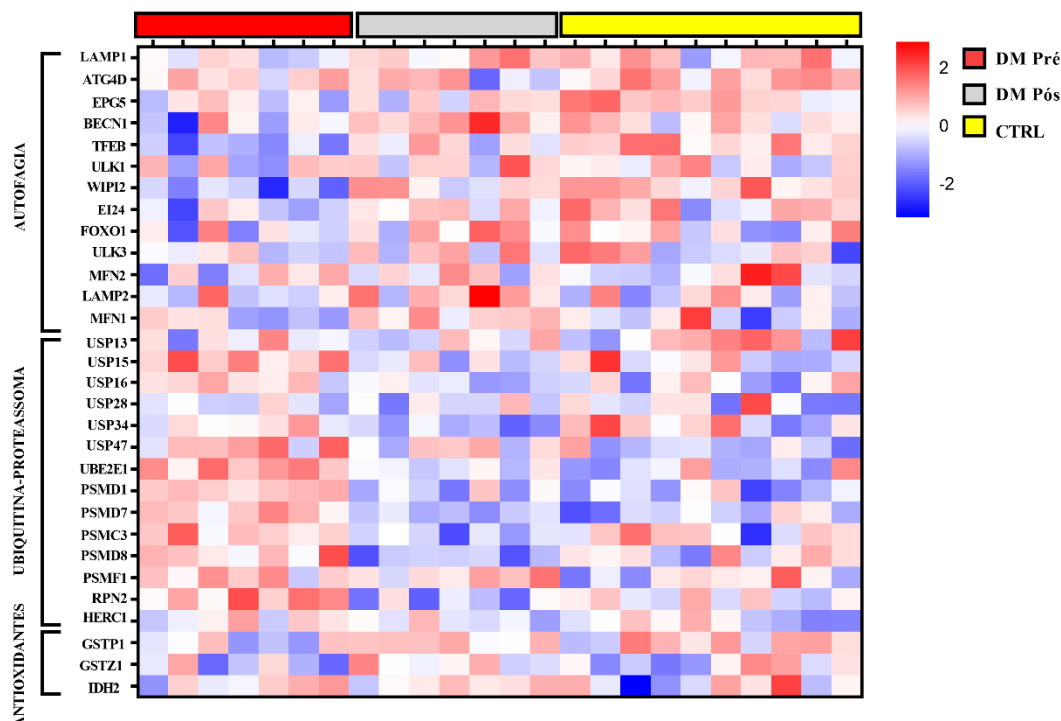
Diferença estatística entre o grupo DM e CTRL.

Fold change: percentual de mudança; *USP*: ubiquitin specific peptidase; *UBE2E1*: ubiquitin-conjugating enzyme E2E1; *PSMD*: 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit; *PSMC*: 26S protease regulatory subunit; *PSMF1*: proteasome inhibitor subunit 1; *RPN2*: ribophorin 2; *HERC1*: HECT and RLD domain containing E3 ubiquitin protein ligase family member 1.

Figura 17: Análise da expressão de genes (RNA-seq) relacionados à capacidade antioxidante

Fold change: percentual de mudança; *GSTP1:* glutathione *S*-transferase Pi 1; *GSTZ1:* glutathione *S*-transferase zeta 1; *IDH2:* isocitrate dehydrogenase 2.

Figura 18: *Heat map* dos genes relacionados a autofagia, via da ubiquitina-proteassoma e antioxidantes



Em vermelho: maior expressão do gene; em azul: menor expressão do gene.

DM: dermatomiosite; CTRL: controle; LAMP: lysosomal-associated membrane protein; ATG4D: autophagy related 4D cysteine peptidase; EPG5: ectopic P-granules autophagy protein 5 homolog; TFEB: transcription factor EB; ULK1: Unc-51 like autophagy activating kinase 1; WIPI2: WD repeat domain phosphoinositide-interacting protein 2; EI24: etoposide-induced protein 24; FOXO-1: forkhead box protein O1; ULK3: unc-51 like autophagy activating kinase 1; MFN: mitofusion; USP: ubiquitin specific peptidase; UBE2E1: ubiquitin-conjugating enzyme E2E1; PSMD: 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit; PSMC3: 26S protease regulatory subunit 6A; PSMF1: proteasome inhibitor subunit 1; RPN2: ribophorin 2; HERC1: HECT and RLD domain containing E3 ubiquitin protein ligase family member 1. GSTP1: glutathione S-transferase pi 1; GSTZ1: glutathione S-transferase zeta 1; IDH2: isocitrate dehydrogenase 2.

DISCUSSÃO

6. Discussão

Ao nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo a avaliar os efeitos de um programa de treinamento físico na RI e no conteúdo lipídico intramuscular de pacientes com MAS. Os principais achados do presente estudo foram: 1) Pacientes com MAS apresentaram uma RI semelhante ao do grupo controle pareado por sexo, idade e IMC; 2) Os pacientes do grupo MAS apresentavam uma menor área de secção transversal de fibras do tipo I e fibras do tipo II comparado ao grupo CTRL; 3) Os pacientes do grupo MAS apresentavam uma maior proporção de fibras do tipo II e menor proporção de fibras do tipo I comparado ao grupo CTRL; 4) O conteúdo lipídico de fibras musculares do tipo II, foi maior no grupo MAS comparado ao grupo CTRL; 5) O grupo CTRL apresentou uma maior expressão de genes relacionados a via da insulina (INSR, RAC1, RAB14, GLUT-4), oxidação lipídica (AMPK β 2, PGC1- α), autofagia (ATG4D, TFEB) e antioxidantes (GSTP1) comparado ao grupo DM; enquanto genes relacionados a via da ubiquitina-proteassoma (USP15, USP16, USP47, UBE2E1, PSMD1 e RPN2) foram menos expressos no grupo CTRL; 6) O treinamento físico levou a uma melhora significativa na potência aeróbia, força, função muscular, além de melhorar os parâmetros clínicos associados a RI e função de células beta pancreáticas no grupo MAS; 7) O treinamento físico promoveu um aumento no tamanho e proporção de fibras musculares do tipo I, enquanto não foram encontradas diferenças significativas nas fibras do tipo II; 8) O treinamento físico levou a uma diminuição significativa no conteúdo lipídico intramuscular de fibras do tipo I e fibras do tipo II no grupo MAS; 9) O treinamento físico levou a um aumento na expressão de genes relacionados a via da insulina (INSR, PI3K, RAC1, AS160, RAB14), oxidação lipídica, (AMPK β 2, PGC1- α), autofagia (TFEB, WIPI2, EI24, FOXO-1, LAMP2), fusão mitocondrial (MFN1), antioxidantes (IDH2, GSTZ1, GSTP1), enquanto levou a diminuição de genes relacionados a via da ubiquitina-proteassoma (USP15, USP16, USP34, USP47, UBE2EI, PSMD1, PSMD7, PSMC3, PSMD8, RPN2).

No presente estudo demonstramos que os pacientes do grupo MAS apresentavam uma importante diminuição da potência aeróbia, força e função muscular quando comparados ao grupo CTRL, assim como tem sido extensivamente relatado na literatura científica (Wiesinger et al., 2000; Dastmalchi et al., 2007; Munters et al., 2013). A depleção de capilares no músculo esquelético, levando a hipóxia tecidual, diminuição de fibras do tipo I, disfunção mitocondrial, estresse do retículo sarcoplasmático, autofagia, inflamação, fibrose e atrofia muscular desempenham um papel importante nessa redução (Coley et al., 2012; Lightfoot et al., 2015;

Manole et al., 2017). As análises histológicas demonstraram que o grupo CTRL apresentava uma maior área de secção transversal e proporção de fibras do tipo I quando comparado ao grupo MAS. Uma vez que as fibras do tipo I são fibras com maior capacidade oxidativa, a diminuição do tamanho e da proporção dessas fibras no músculo esquelético de pacientes com MAS, podem contribuir para uma maior infiltração de lipídios intramusculares nesses pacientes. Sabe-se que em doenças musculares, a incapacidade das células satélites de fazer a regeneração muscular é associada com a infiltração de tecidos ectópicos no músculo esquelético, como colágeno e lipídios (Sciorati et al., 2015; Perandini et al., 2018). Esses tecidos, por sua vez, prejudicam a capacidade contrátil do músculo, diminuindo sua funcionalidade. Dessa forma, estratégias que contribuam para a atenuação da infiltração desses tecidos, podem auxiliar na melhora da qualidade e funcionalidade muscular dos pacientes com MAS.

Partindo desse princípio, Nader et al. (2010) submeteram oito pacientes com MAS a um programa de sete semanas de treinamento físico para avaliar o efeito do exercício físico nos parâmetros histológicos e na expressão de genes relacionados a fibrose muscular. Os autores demonstraram que o treinamento físico resultou em reduções marcantes na expressão de genes pró-fibróticos, mudanças que também foram acompanhadas por uma redução na fibrose tecidual (Nader et al., 2010). Contudo, nenhum estudo até o momento avaliou o efeito do treinamento físico no conteúdo lipídico intramuscular.

Diferentemente do descrito na literatura científica, os pacientes do grupo MAS e do grupo CTRL não apresentaram diferenças significativas entre os parâmetros de RI e de células beta pancreáticas. Entretanto, é importante destacar aqui, que ambos os grupos eram pareados por sexo, idade e IMC. Sabe-se que um dos principais fatores que contribuem para a RI é o sobrepeso/obesidade. Uma vez que os pacientes do grupo MAS (e, consequentemente, do grupo CTRL) apresentavam um sobrepeso/obesidade importante (**Tabela 1**) esses fatores podem ter sido responsáveis por contribuir para não termos encontrado diferença significativa nos parâmetros de RI nos dois grupos. Além disso, o grupo MAS, apresentava uma remissão clínica da doença como demonstrado nos achados clínicos (**Tabela 1**). Isso também pode ter contribuído para não termos encontrado diferenças nos parâmetros de RI entre os grupos. Outro fator que pode ter contribuído para isso, é o consumo alimentar. No presente estudo não foi analisado rigorosamente os hábitos alimentares dos grupos e, portanto, não é possível ter certeza do quanto esse parâmetro pode ter influenciado nas variáveis de RI e células beta pancreáticas.

Dessa forma, mais estudos que possam controlar essas variáveis, são necessários para entender os mecanismos que levam a RI em pacientes com MAS.

Em relação ao conteúdo de lipídios intramusculares, foi observado que o grupo MAS, apresentava um maior conteúdo lipídico em fibras musculares do tipo II comparado ao grupo CTRL, enquanto não foi encontrado diferença no conteúdo lipídico para as fibras musculares do tipo I. As fibras musculares do tipo II são conhecidas como fibras mais glicolíticas e mais propensas a RI (Lillioja et al., 1987). Dessa forma, o excesso de lipídios nessas fibras pode contribuir ainda mais para RI nesse tecido. Além disso, o excesso de lipídios intramusculares também é conhecido por prejudicar a funcionalidade do músculo esquelético, prejudicando a contração muscular (Choi et al., 2016). A infiltração de lipídios no músculo esquelético de pacientes com MAS é uma medida importante para avaliar o grau de progressão da doença (Reimers e Finkenstaedt, 1997; Yao e Gai, 2012; Miranda et al., 2014). Pacientes com doença mais grave e/ou com a doença presente há anos, apresentam uma maior infiltração de lipídios no músculo esquelético (Miranda et al., 2014). O uso de glicocorticoides, o sobrepeso/obesidade, o desuso, a diminuição da capacidade oxidativa do músculo esquelético e a própria fisiopatogênese da doença, podem contribuir para esse aumento (Wiesinger et al., 2000; Dastmalchi et al., 2017; Meyer et al., 2017). Dessa forma, atenuar a infiltração de lipídios intramusculares nesses pacientes, pode contribuir para atenuar o curso dessas doenças.

Na segunda parte do estudo, em resposta ao treinamento físico, os pacientes do grupo MAS apresentaram uma importante melhora na potência aeróbia. Como visto no presente trabalho, e também demonstrado por outros, pacientes com MAS apresentam uma importante diminuição da potência aeróbia. A diminuição da potência aeróbia é associada a um maior risco de mortalidade em diversos estudos, sendo o treinamento físico a principal ferramenta em melhorar esse parâmetro. Além da melhora da potência aeróbia houve um importante aumento no tamanho e proporção de fibras musculares do tipo I, o que pode ter contribuído para melhora da potência aeróbia. A baixa resistência muscular nas MAS pode estar relacionada a uma baixa proporção de fibras do tipo I oxidativas e de contração lenta. A mudança na composição do tipo de fibras e o aumento da área de fibras musculares podem contribuir para melhorar a resistência muscular e diminuir a fadiga muscular após um programa de treinamento físico (Dastmalchi et al., 2007). Assim como nosso estudo, o estudo de Dastmalchi et al. (2007) demonstrou que após um programa de treinamento físico houve um importante aumento no tamanho e proporção de fibras musculares do tipo I em pacientes com MAS. Dessa forma, a prática do exercício físico contribui de forma importante para melhorar a resistência e fadiga muscular nessas doenças.

Após o treinamento físico também houve um aumento na força e na função muscular dos pacientes com MAS. As MAS são doenças que apresentam como principal manifestação clínica a diminuição da força muscular e, conseqüentemente, prejuízos importantes na função muscular, como diminuição de atividades de sentar e levantar e levantar e caminhar. A diminuição da força e função muscular é o principal fator no prejuízo da qualidade de vida desses pacientes (Poulsen et al., 2017). Dessa forma, melhorar essas variáveis pode corroborar para a melhora da qualidade de vida nesses indivíduos. Em indivíduos idosos e em indivíduos obesos, a infiltração de lipídios intramusculares desempenha um papel mecanicista no desenvolvimento da resistência anabólica e na progressão da atrofia muscular (Rivas et al., 2016). Nesses indivíduos, a diminuição na massa e na força muscular está associada ao aumento do acúmulo de metabólitos lipídicos bioativos e parece ser independente do aumento da inflamação (Rivas et al., 2016). Assim, é possível que a melhora da força e capacidade funcional pelo treinamento físico no presente estudo, se deu pela melhora da qualidade muscular, devido a redução da infiltração de lipídios intramusculares.

Após o treinamento físico, houve uma melhora na sensibilidade à ação da insulina e na função das células beta pancreáticas. A síndrome metabólica é uma condição clínica altamente prevalente em pacientes com MAS e associada a atividade da doença e maior risco cardiometabólico nesses pacientes (de Moraes et al., 2013; de Souza et al., 2014; Silva et al., 2016; Araujo et al., 2018). A RI desempenha um papel central no aparecimento da síndrome metabólica, dessa forma, atenuar a RI pode diminuir o surgimento de síndrome metabólica nesses indivíduos. Vários fatores podem ter contribuído para a melhora da RI nos pacientes com MAS. O treinamento físico é considerado uma importante ferramenta em condições de RI, por aumentar a translocação de GLUT-4 por vias independentes de insulina, levando a uma maior captação de glicose pelo músculo esquelético. Existe uma importante associação entre maior potência aeróbia com uma maior sensibilidade à ação da insulina (Cancino et al., 2018). Partindo desse princípio, diversos estudos demonstram que atletas de alto rendimento, assim como indivíduos engajados em programas de treinamento físico, apresentam uma melhor sensibilidade à ação da insulina do que indivíduos sedentários (Yates et al., 2015; Jolleyman et al., 2017; Duvivier et al., 2017). Dessa forma, a melhora da potência aeróbia pelo treinamento físico, pode ser um fator que contribuiu para melhorar a sensibilidade à ação da insulina nos pacientes com MAS. Sabe-se também que o aumento do tecido adiposo aumenta a expressão de substâncias inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) que prejudicam a via insulínica (Ye, 2013). Entretanto, no presente estudo, não observamos diferenças na

composição corporal após o treinamento, sugerindo que outro mecanismo possa ter sido responsável por isso. Mesmo sem alteração na composição corporal, observamos uma diminuição importante no excesso de lipídios intramusculares nas fibras musculares do tipo I e do tipo II após o treinamento físico. Sabe-se que os intermediários lipídicos (diacilglicerol e ceramidas), que estão aumentados no músculo esquelético em situações de excesso de lipídios, ativam genes que prejudicam a sinalização de insulina (Morino et al., 2006). Dessa forma, a melhora da potência aeróbia e diminuição do excesso de lipídios intramusculares, podem ter contribuído para melhora da sensibilidade à ação da insulina nos pacientes com MAS.

Como descrito anteriormente, o treinamento físico levou a uma importante diminuição do conteúdo lipídico de fibras do tipo I e do tipo II nos pacientes com MAS. Em idosos, o excesso de lipídios intramusculares tem sido associado negativamente com a força muscular e o grau de independência da marcha (Akazawa et al., 2017). Em indivíduos com doenças crônicas, como a doença pulmonar obstrutiva crônica, o excesso de lipídios intramusculares está associado à disfunção muscular e um maior risco cardiometabólico (Robles et al., 2015; Vivodtzev et al., 2018). Já em pacientes com doenças autoimunes reumáticas, como a artrite reumatoide, o acúmulo de lipídios intramusculares está associado à inflamação sistêmica, sedentarismo, uso prolongado de glicocorticoide e menor massa muscular (Khoja et al., 2018). Além disso, o acúmulo de lipídios intramusculares nessa população está associado a menor força e função muscular (Baker et al., 2018). Assim, atenuar o excesso de lipídios intramusculares pode corroborar para melhora da força e funcionalidade muscular, assim como para atenuar o risco cardiometabólico.

Ao nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo a avaliar o efeito do treinamento físico no conteúdo de lipídios intramusculares de pacientes com MAS. O treinamento físico tem sido considerado uma importante ferramenta no reestabelecimento da força e da função muscular nessas doenças. Contudo, os mecanismos moleculares pelo qual o treinamento físico pode melhorar esses parâmetros ainda são pouco estudados. O treinamento físico parece atenuar a fibrose e a inflamação muscular nesses pacientes por aumentar genes relacionados ao metabolismo oxidativo (Nader et al., 2010). Corroborando esses dados, um elegante estudo de Munters et al. (2016) demonstrou que o treinamento físico em pacientes com MAS pode ativar um fenótipo aeróbico, promovendo o crescimento muscular e, simultaneamente, suprimir a resposta inflamatória nos músculos desses pacientes. Assim, fica claro que o treinamento físico é uma importante ferramenta em melhorar o metabolismo aeróbio desses indivíduos. Dessa forma, acreditamos que a melhora da potência aeróbia, assim como um aumento no tamanho e

proporção de fibras do tipo I, e, conseqüentemente, melhora do metabolismo oxidativo, levou a uma maior oxidação de lipídios no músculo esquelético, contribuindo assim para melhora dos parâmetros de RI e melhora da qualidade e funcionalidade do músculo esquelético.

Além desses parâmetros, os resultados do sequenciamento de RNA do músculo esquelético, demonstraram que o treinamento proposto no presente estudo foi capaz de alterar a expressão de genes relacionados a diversas vias, como: via de autofagia, via do estresse oxidativo, via da ubiquitina-proteassoma, bem como genes relacionados a oxidação lipídica e da sinalização de insulina foco principal do presente estudo.

Em relação a via da insulina e genes relacionados a oxidação de lipídios, observamos que o grupo CTRL apresentava uma maior expressão de genes relacionados à via da insulina (RAC1, RAB14, GLUT4) e uma menor expressão de genes relacionados a oxidação de lipídios (AMPK β 2 e PGC-1 α) comparado ao grupo MAS, sugerindo um prejuízo molecular no transporte de glicose para o músculo esquelético e um prejuízo molecular na oxidação de lipídios. Após o treinamento físico, diversos genes relacionados à via da insulina (INSR, PI3K, RAB14, AS160 e AMPK β 2) e oxidação lipídica (AMPK β 2 e PGC-1 α) tiveram sua expressão aumentada, sugerindo uma melhora na sinalização insulínica e uma maior oxidação de lipídios no músculo esquelético.

Para que ocorra a sinalização intracelular de insulina em tecidos sensíveis à sua ação, é necessária a ligação do hormônio a um receptor específico da membrana (INSR). O aumento da expressão do gene INSR sugere uma maior sinalização dessa via após o treinamento nesses pacientes. A ligação da insulina com o seu receptor (INSR) leva a ativação da PI3K, que também teve a expressão do seu gene aumentada em resposta ao treinamento. A ativação da PI3K, por sua vez, aumenta a fosforilação em serina da AKT permitindo o transporte de glicose no músculo, através da translocação da proteína GLUT-4 para a membrana celular (Boura-Halfon et al., 2009). Contudo, no presente estudo não observamos um aumento na expressão do gene da AKT. Apesar de não vermos diferença no gene da AKT, os genes que são ativados por ela (AS160 e RAB14) e que ativam a translocação do GLUT-4 (Boura-Halfon et al., 2009; Boucher et al., 2014; Samuel e Shulman, 2016), tiveram sua expressão aumentada com o treinamento.

Como descrito anteriormente nesse trabalho, a contração muscular leva a translocação do GLUT-4 e conseqüente captação de glicose por vias independentes da ação da insulina, sendo essa ação, dependente da ativação da AMPK (Richter et al., 2011). A AMPK é uma molécula heterotrimérica que contém uma subunidade α (catalítica), com duas isoformas (α 1 e α 2), e duas

subunidades regulatórias (β e γ), com as seguintes isoformas: $\beta 1$, $\beta 2$, $\gamma 1$, $\gamma 2$ e $\gamma 3$ (Pauli et al., 2009). Vários estudos têm demonstrado a importância da ativação da AMPK pela contração muscular em condições de resistência à ação da insulina em resposta ao treinamento físico (Hollozy et al., 2005; 2011; McGee et al., 2006). É descrito na literatura que a ativação da AMPK leva a um aumento na fosforilação de AS160, o que consequentemente leva a translocação do GLUT-4 (Kjøbsted et al., 2016). Em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, por exemplo, um programa de treinamento aeróbio levou a um aumento na fosforilação da AMPK do músculo esquelético, o que contribuiu para a melhora da resistência à ação da insulina nesses pacientes (Benatti et al., 2018). Dessa forma, acreditamos que o aumento da expressão da AMPK no músculo esquelético dos pacientes com MAS, pode ter levado a uma maior sinalização da via insulínica, corroborando para a melhora da sensibilidade à ação da insulina encontrada no presente estudo.

A ativação da AMPK também é capaz de aumentar a oxidação lipídica no músculo esquelético. A ativação da AMPK no músculo pelo exercício leva à fosforilação e inibição da acetil-CoA carboxilase, que por sua vez leva a uma diminuição na concentração de malonil-CoA, o que aumenta a entrada de ácidos graxos nas mitocôndrias, onde é oxidado (Itani et al., 2003). A AMPK também é capaz de induzir a biogênese mitocondrial (Kjøbsted et al., 2018). Em resposta ao treinamento físico, a biogênese mitocondrial ocorre tanto por um aumento no número como no tamanho das mitocôndrias (Gan et al., 2018). Vários fatores ativados pela AMPK contribuem para a regulação da biogênese mitocondrial, sendo o fator de transcrição *PGC1- α* , um dos principais responsáveis em mediar essa resposta (Winder et al., 2006). Um aumento na expressão de *PGC1- α* no músculo esquelético é suficiente para levar a uma mudança fenotípica de fibras musculares (Puigserver et al., 2003). A mudança de fibras promovida pelo *PGC-1 α* é caracterizada por aumento da densidade e função mitocondrial, aumento do metabolismo oxidativo, expressão elevada de proteínas miofibrilares características das fibras musculares tipo I e mudança no uso de combustível do substrato (Puigserver et al., 2003; 2005). Dessa forma, a ativação do *PGC-1 α* pela AMPK, pode aumentar a oxidação de lipídios no músculo esquelético, atenuando sua infiltração nesse tecido.

Além disso, vários estudos indicam que o *PGC-1 α* evita o catabolismo de proteínas e a perda de massa muscular em várias condições de perda muscular diferentes (Cannavino et al., 2014; Southern et al., 2019; Gorgey et al., 2019). Quando os níveis de *PGC-1 α* são mantidos ou elevados em condições como atrofia muscular induzida por desnervação, distrofia muscular de Duchenne e dano muscular decorrente do tratamento com estatinas, essas condições são

atenuadas (Guevel et al., 2011; Southern et al., 2019; Gorgey et al., 2019) sugerindo um potencial efeito terapêutico desse gene nessas doenças. O *PGC-1 α* também tem demonstrado ser capaz de aumentar a expressão e a atividade de genes antioxidantes (Thirupathi et al., 2017), além de ser capaz de reduzir a produção de citocinas inflamatórias (Eisele et al., 2015). Portanto, o aumento na expressão do *PGC-1 α* no presente estudo pode também ter contribuído para atenuar os efeitos negativos das MAS no músculo esquelético.

A autofagia é um processo pelo qual uma cisterna de membrana plana envolve uma porção do citoplasma, formando eventualmente uma vesícula fechada de membrana dupla (autofagossomo), que se funde com o lisossomo onde sua carga é degradada (Jiao et al., 2017). Dessa forma, o processo de autofagia leva à reciclagem celular, induzindo à degradação de organelas citoplasmáticas disfuncionais, proteínas, macromoléculas e a reciclagem dos produtos de degradação (Parzych et al., 2014). Em pacientes com MAS, um aumento no processo de autofagia foi demonstrado no músculo esquelético (Henriques-Pons et al., 2009; Cappelletti et al., 2014). A ativação da autofagia no músculo esquelético de pacientes com MAS parece ser responsável por limitar os danos e promover o reparo, ao invés de levar à degradação do músculo esquelético (Cappelletti et al., 2014). Portanto, um aumento no processo de autofagia pode atenuar os efeitos deletérios dessas doenças no músculo esquelético desses pacientes.

Vários fatores de transcrição responsivos ao estresse, incluindo o FOXO-1, TFEB e *PGC-1 α* , desempenham um importante papel na regulação da expressão de genes de autofagia em resposta ao exercício (Vainshtein et al., 2016). No presente estudo, o grupo CTRL apresentava uma maior expressão de genes relacionados a autofagia (*ATG4D*, *TFEB*, *PGC-1 α*) comparado ao grupo MAS. Em resposta ao treinamento, o grupo MAS teve um aumento na expressão de vários fatores de transcrição relacionados à autofagia, como FOXO-1, TFEB e *PGC-1 α* . Acreditamos que o aumento desses fatores de transcrição possa ser responsável pelo aumento de vários genes relacionados à autofagia (*ELN*, *WIP1*) e biogênese lisossômica (*LAMP2*) observado no grupo MAS.

É descrito na literatura que um aumento na autofagia basal é necessário para a adaptação do músculo esquelético ao treinamento e, consequentemente, melhora do desempenho físico (Lira et al., 2013). A ativação da autofagia em resposta ao treinamento físico parece estimular a degradação de componentes celulares danificados no músculo esquelético (Halling et al., 2016). Em pacientes com MAS, a principal organela danificada e disfuncional é a mitocôndria (Meyer et al., 2017; Boehler et al., 2019). Esse dano está associado a baixa tolerância ao

exercício, reparo inadequado da miofibrila, morte da miofibrila e, conseqüentemente, fraqueza muscular (Meyer et al., 2017). O processo de autofagia que ocorre nas mitocôndrias é denominado mitofagia. A mitofagia é caracterizada pela seleção de mitocôndrias com mau funcionamento, envolvimento por um autofagossomo e transporte para os lisossomos para degradação (Triolo et al., 2019). Assim, o conteúdo e a função lisossômica são necessários na manutenção de um *pool* mitocondrial saudável dentro do músculo (Triolo et al., 2019). O gene TFEB é conhecido como um gene chave na regulação da biogênese lisossômica, coordenando esse programa por aumentar a expressão de genes de autofagia e lisossômicos (Settembre et al., 2019). Em resposta ao exercício, a expressão do gene TFEB aumenta de uma maneira dependente de PGC-1 α (Erlich et al., 2018). No presente estudo, observamos um aumento na expressão gênica de PGC-1 α e TFEB, os quais estão associados à biogênese mitocondrial e lisossômica, respectivamente. Além disso, o gene da proteína da membrana lisossômica 2 (*LAMP-2*) aumentou sua expressão em resposta ao treinamento físico; assim, acreditamos que o aumento de genes relacionados à mitofagia e à biogênese lisossômica em resposta ao treinamento físico, possa levar à reciclagem de mitocôndrias no músculo esquelético de pacientes com MAS. Corroborando isso, um aumento na expressão gênica de genes relacionados à biogênese mitocondrial (PGC-1 α) e à fissão mitocondrial (*MFN1*) foi observado após o treinamento físico. Assim, pela melhora do processo de autofagia/mitofagia e da biogênese lisossômica, o treinamento físico pode melhorar a qualidade e quantidade das mitocôndrias, contribuindo para uma maior geração de ATP e, conseqüentemente, levando à melhora no desempenho e tolerância ao exercício observado no presente estudo.

No presente estudo, também observamos uma importante diminuição nos genes relacionados a via da ubiquitina-proteassoma no músculo esquelético de pacientes com MAS. A característica marcante da via da ubiquitina-proteassoma é sua capacidade de atingir proteínas específicas para degradação de uma maneira altamente regulada (Bilodeau et al., 2016). A degradação de uma proteína pela via da ubiquitina-proteassoma envolve duas etapas: marcação do substrato por ligação covalente de múltiplas moléculas de ubiquitina e degradação da proteína marcada pelo complexo do proteassoma 26S com liberação de ubiquitina livre e reutilizável (Ciechanover et al., 1998). O principal mecanismo pelo qual a desubiquitinação poderia estar envolvida na perda de massa muscular, seria a regulação negativa das deubiquitinasas para promover a ubiquitinação e a degradação das proteínas (Wing et al., 2013). As proteínas miofibrilares compõem a maior parte da proteína muscular e, portanto, sua degradação é essencial para induzir atrofia muscular (Bilodeau et al., 2016). Em várias

condições, como degeneração muscular que segue a imobilização a longo prazo, desnervação e estados catabólicos graves (como ocorre na sepse e/ou caquexia induzida pelo câncer), uma ativação da via da ubiquitina-proteassoma e a indução de muitos de seus componentes enzimáticos é um dos principais fatores que contribuem para a atrofia muscular esquelética (Glickman et al., 2002). Portanto, estratégias que possam atenuar genes relacionados a via da ubiquitina-proteassoma podem contribuir para atenuar a atrofia muscular e melhorar os parâmetros clínicos em doenças associadas a perda de massa muscular esquelética.

O papel da via da ubiquitina-proteassoma em pacientes com MAS foi pouco investigado. Em um modelo animal de MAS, o estresse do retículo sarcoplasmático parece ser o responsável pela ativação da via da ubiquitina-proteassoma e, consequentemente, pela atrofia do músculo esquelético (Rayavarapu et al., 2013). Em um estudo recente que avaliou os efeitos de um programa de treinamento aeróbio na expressão gênica do músculo esquelético de pacientes com MAS, os autores observaram um aumento nos genes relacionados à síntese de proteínas e hipertrofia muscular, enquanto a expressão de genes relacionados ao estresse do retículo sarcoplasmático foi diminuída (Meyer et al., 2017). O retículo sarcoplasmático é uma rede de túbulos ramificados e sacos achatados que se estendem da membrana nuclear ao longo do citosol, sendo uma de suas principais funções, orquestrar a síntese, dobramento e maturação estrutural das proteínas celulares (Henriques-Pons et al., 2009). A ativação do estresse no retículo sarcoplasmático pode induzir alterações na bioenergética mitocondrial e aumentar o estresse oxidativo ao induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (Choi et al., 2016; Afroze et al., 2019).

O estresse oxidativo é caracterizado por uma perda de equilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio durante o metabolismo celular e os mecanismos que eliminam essas espécies para manter a homeostase redox celular (Choi et al., 2016). Um aumento nas espécies reativas de oxigênio leva à oxidação dos componentes celulares, causando disfunção contrátil muscular e déficits de energia (Afroze et al., 2019). Por outro lado, um aumento nos fatores antioxidantes, pode contribuir para atenuar os efeitos deletérios do estresse oxidativo no músculo esquelético. Portanto, promover um aumento da capacidade antioxidante do músculo esquelético pode ajudar na manutenção da homeostase muscular.

Além da diminuição na expressão dos genes da via da ubiquitina-proteassoma, também observamos um aumento em genes antioxidantes, sugerindo que o treinamento físico pode modular o estresse oxidativo no músculo esquelético desses pacientes. O estresse oxidativo leve ou transitório regula positivamente o sistema de ubiquitinação e a atividade do

proteassoma nas células e tecidos, além de aumentar transitoriamente a proteólise intracelular (Choi et al., 2016). Várias evidências sugerem que o estresse oxidativo promove aumento na expressão gênica de proteínas envolvidas na via da ubiquitina-proteassoma (Shang et al., 2011; Campos et al., 2018; Kadoguchi et al., 2019). Dessa forma, acreditamos que o aumento de genes relacionados à capacidade antioxidante após o treinamento físico tenha sido responsável por atenuar os genes da via da ubiquitina-proteassoma nos pacientes com MAS. Esses achados sugerem que o treinamento físico pode reverter a atrofia muscular esquelética, por aumentar a capacidade antioxidante em pacientes com MAS.

Algumas estratégias futuras poderiam auxiliar em confirmar os resultados do presente estudo. Em primeiro lugar, devido à raridade da doença e as diversas comorbidades associadas a ela, não foi incluído um grupo controle não treinado. Estudos multicêntricos com um maior número de pacientes e com um grupo controle não treinado, corroborariam para comprová-la os achados do presente estudo. Segundo, não foi realizado controle do consumo alimentar de ambos os grupos. Uma vez que o excesso de carboidratos e/ou gorduras na dieta pode interferir na RI e no conteúdo de lipídios intramusculares, respectivamente, estudos que possam controlar essa variável também ajudariam a comprovar o real efeito do treinamento físico. Terceiro, o grupo MAS foi composto apenas por pacientes com doença em remissão clínica. Além disso, diferente do descrito na literatura, os pacientes do presente estudo apresentavam uma baixa prevalência de síndrome metabólica. Como não incluimos, por exemplo, pacientes que estavam em uso de estatinas e/ou fibratos no presente estudo (por essas drogas afetarem o conteúdo lipídico intramuscular), esse pode ter sido um fator que contribuiu para a baixa prevalência de síndrome metabólica nos pacientes. Estudos que avaliem os efeitos do treinamento físico em pacientes com doença ativa, maior prevalência de síndrome metabólica e em uso de glicocorticoides (que afetam negativamente tanto a RI como o conteúdo lipídico muscular) ajudariam a comprovar o efeito global do exercício físico nas variáveis estudadas. Por fim, a avaliação da expressão proteica, poderia auxiliar na comprovação dos resultados da expressão gênica.

CONCLUSÕES

7. Conclusões

O treinamento físico foi uma ferramenta eficaz em melhorar a sensibilidade à ação da insulina e a função de células beta pancreáticas nos pacientes com MAS. Além disso, o treinamento físico levou a um aumento no tamanho e na proporção de fibras do tipo I, além de diminuir o conteúdo lipídico intramuscular dos pacientes com MAS. Dessa forma, o treinamento físico parece ser eficaz em contribuir para diminuição do risco cardiometabólico, além de melhorar a qualidade e funcionalidade muscular desses pacientes.

Em relação à resposta da expressão gênica pelo RNA-seq, o treinamento físico aumentou a expressão gênica da *AMPK β 2* e *PGC-1 α* , o que pode ter levado a mudança fenotípica de fibras observadas no presente estudo. Da mesma forma, pode ter levado a um aumento no número e tamanho de mitocôndrias, aumentando a oxidação de lipídios e sendo responsáveis pela diminuição do seu excesso no músculo esquelético dos pacientes com MAS. O aumento na oxidação de lipídios pode ter feito com que ocorresse uma diminuição em espécies lipídicas tóxicas que prejudicam a sinalização insulínica no músculo esquelético, contribuindo assim para uma maior sinalização dessa via, como demonstrado pelo aumento de diversos genes da cascata da insulina.

O treinamento físico também foi capaz de aumentar os genes relacionados à autofagia, mitofagia e biogênese lisossomal no músculo esquelético de pacientes com MAS. Esses resultados sugerem um aumento na reciclagem de proteínas e organelas danificadas, que podem ser responsáveis por contribuir para a melhora do desempenho e da resistência muscular esquelética nesses pacientes. Além disso, o treinamento físico diminuiu os genes relacionados a via da ubiquitina-proteassoma e levou a um aumento dos genes relacionados à capacidade antioxidante do músculo esquelético. Isso, por sua vez, poderia contribuir para atenuar a perda de massa muscular e atenuar os efeitos deletérios do estresse oxidativo no músculo esquelético desses pacientes.

REFERÊNCIAS

8. Referências

- [1] Dalakas MC. Inflammatory muscle diseases: a critical review on pathogenesis and therapies. *Curr Opin Pharmacol* 2010;10:346-52.
- [2] Bernatsky S, Joseph L, Pineau C, Belisle P, Boivin J, Banerjee D, et al. Estimating the prevalence of polymyositis and dermatomyositis from administrative data: age, sex and regional differences. *Ann Rheum Dis* 2009;68:1192-6.
- [3] Smoyer Tomic K, Amato A, Fernandes A. Incidence and prevalence of idiopathic inflammatory myopathies among commercially insured, Medicare supplemental insured, and Medicaid enrolled populations: an administrative claims analysis. *BMC Musculoskel Disord* 2012;13:103.
- [4] Furst D, Amato A, Iorga SR, Gajria K, Fernandes A. Epidemiology of adult idiopathic inflammatory myopathies in a U.S. managed care plan. *Muscle Nerve* 2012;45:676-83.
- [5] Dalakas MC. Inflammatory muscle diseases. *N Engl J Med* 2015;373:393-4.
- [6] Zong M, Lundberg IE. Pathogenesis, classification and treatment of inflammatory myopathies. *Nat Rev Rheumatol* 2011;7:297-306.
- [7] Limaye VS, Lester S, Blumbergs P, Roberts-Thomson PJ. Idiopathic inflammatory myositis is associated with a high incidence of hypertension and diabetes mellitus. *Int J Rheum Dis* 2010;13:132-7.
- [8] Wang H, Tang J, Chen X, Li F, Luo J. Lipid profiles in untreated patients with dermatomyositis. *J Eur Acad Dermatol Venereo* 2013;27:175-9.
- [9] Wang H, Cai Y, Cai L, Hu Y, Chen X, Deng J. Altered lipid levels in untreated patients with early polymyositis. *PLoS One*. 2014;9:e89827.
- [10] Oliveira DS, Guimarães MS, Shinjo SK. Insulin resistance is increased in adult patients with dermatomyositis. *MedicalExpress* 2018;5.
- [11] de Moraes MT, de Souza FH, de Barros TB, Shinjo SK. Analysis of metabolic syndrome in adult dermatomyositis with a focus on cardiovascular disease. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013;65:793-9.
- [12] Silva MG, Borba EF, Mello SB, Shinjo SK. Serum adipocytokine profile and metabolic syndrome in young adult female dermatomyositis patients. *Clinics (São Paulo)* 2016;71:709-14.
- [13] Araujo PAO, Silva MG, Borba EF, Shinjo SK. High prevalence of metabolic syndrome in antisynthetase syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2018;36:241-7.
- [14] Geer EB, Islam J, Buettner C. Mechanisms of glucocorticoid-induced insulin resistance: focus on adipose tissue function and lipid metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2014;43:75-102.

- [15] Yazıcı D, Sezer H. Insulin resistance, obesity and lipotoxicity. *Adv Exp Med Biol* 2017;960:277-304.
- [16] Reimers CD, Finkenstaedt M. Muscle imaging in inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol* 1997;9:475-85.
- [17] Yao L, Gai N. Fat-corrected T2 measurement as a marker of active muscle disease in inflammatory myopathy. *AJR Am J Roentgenol* 2012;198:475-81.
- [18] Miranda SS, Alvarenga D, Rodrigues JC, Shinjo SK. Different aspects of magnetic resonance imaging of muscles between dermatomyositis and polymyositis. *Rev Bras Reumatol* 2014;54:295-300.
- [19] Pinal-Fernandez I, Casal-Dominguez M, Carrino JA, Lahouti AH, Basharat P, Albayda J, Paik JJ, et al. Thigh muscle MRI in immune-mediated necrotising myopathy: extensive oedema, early muscle damage and role of anti-SRP autoantibodies as a marker of severity. *Ann Rheum Dis* 2017;76:681-7.
- [20] Glass CK, Olefsky JM. Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. *Cell Metab* 2012;15:635-45.
- [21] Rivas DA, McDonald DJ, Rice NP, Haran PH, Dolnikowski GG, Fielding RA. Diminished anabolic signaling response to insulin induced by intramuscular lipid accumulation is associated with inflammation in aging but not obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2016;310:561-9.
- [22] Munters LA, Dastmalchi M, Andgren V, Emilson C, Bergegård J, Regardt M, et al. Improvement in health and possible reduction in disease activity using endurance exercise in patients with established polymyositis and dermatomyositis: a multicenter randomized controlled trial with a 1-year open extension followup. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013;65:1959-68.
- [23] Munters LA, Loell I, Ossipova E, Raouf J, Dastmalchi M, Lindroos E, et al. Endurance exercise improves molecular pathways of aerobic metabolism in patients with myositis. *Arthritis Rheumatol* 2016;68:1738-50.
- [24] Goodpaster BH, Chomentowski P, Ward BK, Rossi A, Glynn NW, Delmonico MJ, et al. Effects of physical activity on strength and skeletal muscle fat infiltration in older adults: a randomized controlled trial. *J Appl Physiol* 2008;105:1498-503.
- [25] Louche K, Badin PM, Montastier E, Laurens C, Bourlier V, de Glisezinski I, et al. Endurance exercise training up-regulates lipolytic proteins and reduces triglyceride content in skeletal muscle of obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:4863-71.
- [26] Schmidt J. Current classification and management of inflammatory myopathies. *J Neuromuscul Dis* 2018;5:109-29.

- [27] Mandel DE, Malemud CJ, Askari AD. Idiopathic inflammatory myopathies: A review of the classification and impact of pathogenesis. *Int J Mol Sci* 2017;18: 27-36.
- [28] Dalakas MC, Hohlfeld R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet* 2003;362:971-82.
- [29] Kissel JT, Mendell JR, Rammohan KW. Microvascular deposition of complement membrane attack complex in dermatomyositis. *N Engl J Med* 1986;314:329-34.
- [30] Emslie-Smith AM, Engel AG. Microvascular changes in early and advanced dermatomyositis: a quantitative study. *Ann Neurol* 1990;27:343-56.
- [31] Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (parts 1 and 2). *New Engl J Med*. 1975;292:344-7.
- [32] Lundberg IE, Tjärnlund A, Bottai M, Werth VP, Pilkington C, Visser M, et al. International Myositis Classification Criteria Project consortium, The Euromyositis register and The Juvenile Dermatomyositis Cohort Biomarker Study and Repository (JDRG) (UK and Ireland). 2017 European League Against Rheumatism / American College of Rheumatology classification criteria for adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies and their major subgroups. *Ann Rheum Dis* 2017;76:1955-64.
- [33] Luo YB, Mastaglia FL. Dermatomyositis, polymyositis and immune-mediated necrotising myopathies. *Biochim Biophys Acta* 2015;1852:622-32.
- [34] Gherardi RK. Pathogenic aspects of dermatomyositis, polymyositis and overlap myositis. *Presse Med* 2011;40:e209-18.
- [35] Lahouti AH, Christopher-Stine L. Polymyositis and dermatomyositis: novel insights into the pathogenesis and potential therapeutic targets. *Discov Med* 2015;19:463-70.
- [36] Targoff IN. Update on myositis-specific and myositis-associated autoantibodies. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12:475-81.
- [37] Fujimoto M, Watanabe R, Ishitsuka Y, Okiyama N. Recent advances in dermatomyositis-specific autoantibodies. *Curr Opin Rheumatol* 2016;28:636-44.
- [38] Gunawardena H, Betteridge ZE, McHugh NJ. Newly identified autoantibodies: relationship to idiopathic inflammatory myopathy subsets and pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol* 2008;20:675-80.
- [39] 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;138:1464-74.
- [40] Barsotti S, Lundberg IE. Current treatment for myositis. *Curr Treat Opt Rheumatol* 2018;4:299-315.
- [41] Oddis CV. Update on the pharmacological treatment of adult myositis. *J Intern Med* 2016;280:63-74.

- [42] Iaccarino L, Ghirardello A, Bettio S, Zen M, Gatto M, Punzi L, et al. The clinical features, diagnosis and classification of dermatomyositis. *J Autoimmun* 2014;49:122-7.
- [43] Dalakas MC, Illa I, Dambrosia JM, Soueidan SA, Stein DP, Otero C, Dinsmore ST, McCrosky S. A controlled trial of high-dose intravenous immune globulin infusions as treatment for dermatomyositis. *N Engl J Med* 1993;329:1993-2000.
- [44] Fasano S, Gordon P, Hajji R, Loyo E, Isenberg DA. Rituximab in the treatment of inflammatory myopathies: a review. *Rheumatology (Oxford)* 2017;56:26-36.
- [45] Limaye VS, Lester S, Blumbergs P, Roberts-Thomson PJ. Idiopathic inflammatory myositis is associated with a high incidence of hypertension and diabetes mellitus. *Int J Rheum Dis* 2010;13:132-7.
- [46] Kurl S, Laaksonen DE, Jae SY, Mäkikallio TH, Zaccardi F, Kauhanen J, et al. Metabolic syndrome and the risk of sudden cardiac death in middle-aged men. *Int J Cardiol* 2016;203:792-7.
- [47] Hess PL, Al-Khalidi HR, Friedman DJ, Mulder H, Kucharska-Newton A, Rosamond WR, et al. The metabolic syndrome and risk of sudden cardiac death: The atherosclerosis risk in communities study. *J Am Heart Assoc* 2017;6:110-125.
- [48] Soto Rodríguez A, García Soidán JL, Arias Gómez MJ, Leirós Rodríguez R, Del Álamo Alonso A, et al. [Metabolic syndrome and visceral fat in women with cardiovascular risk factor]. *Nutr Hosp* 2017;34:863-8.
- [49] Ju SY, Lee JY, Kim DH. Association of metabolic syndrome and its components with all-cause and cardiovascular mortality in the elderly: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Medicine (Baltimore)* 2017;96:e8491.
- [50] Lann D, LeRoith D. Insulin resistance as the underlying cause for the metabolic syndrome. *Med Clin North Am* 2007;91:1063-77.
- [51] Tan SY, Merchant J. Frederick Banting (1891-1941): Discoverer of insulin. *Singapore Med J* 2017;58:2-3.
- [52] Blair M. Diabetes mellitus review. *Urol Nurs* 2016;36:27-36.
- [53] Kalwat MA, Cobb MH. Mechanisms of the amplifying pathway of insulin secretion in the β cell. *Pharmacol Ther* 2017;179:17-30.
- [54] Mirsky IA. The metabolism of insulin. *Diabetes* 1964;13:225-9.
- [55] Saltiel AR. Insulin signaling in the control of glucose and lipid homeostasis. *Handb Exp Pharmacol* 2016;233:51-71.
- [56] Mayer JP, Zhang F, DiMarchi RD. Insulin structure and function. *Biopolymers* 2007;88:687-713.
- [57] De Meyts P. Insulin and its receptors: structure, function and evolution. *Bioessay* 2004;26:1351-62.

- [58] Menting JG, Whittaker J, Margetts MB, Whittaker LJ, Kong GK, Smith BJ, et al. How insulin engages its primary binding site on the insulin receptor. *Nature* 2013;493:241-5.
- [59] Lee J, Pilch PF. The insulin receptor: structure, function, and signaling. *Am J Physiol* 1994;266:C319-34.
- [60] Boucher J, Kleinridders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014;6:256-568.
- [61] Boura-Halfon S, Zick Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;296:81-91.
- [62] Guo S. Insulin signaling, resistance, and the metabolic syndrome: insights from mouse models into disease mechanisms. *J Endocrinol* 2014;220:1-23.
- [63] Deshmukh AS. Insulin-stimulated glucose uptake in healthy and insulin-resistant skeletal muscle. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2016;26:13-24.
- [64] Khan AH, Pessin JE. Insulin regulation of glucose uptake: a complex interplay of intracellular signalling pathways. *Diabetologia* 2002;45:1475-83.
- [65] Roach PJ, Depaoli-Roach AA, Hurley TD, Tagliabracci VS. Glycogen and its metabolism: some new developments and old themes. *Biochem J* 2012;441:763-87.
- [66] Lebovitz HE. Insulin resistance: definition and consequences. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001;109:135-48.
- [67] Lastra G, Manrique CM, Hayden MR. The role of beta-cell dysfunction in the cardiometabolic syndrome. *J Cardiometab Syndr* 2006;1:41-6.
- [68] Ward WK, Beard JC, Porte D Jr. Clinical aspects of islet B-cell function in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev* 1986;2:297-313.
- [69] Ammon HP. Hyper- and hypoinsulinemia in type-2 diabetes: what may be wrong in the secretory mechanism of the B-cell. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1997;2:43-7.
- [70] Petersen KF, Shulman GI. Etiology of insulin resistance. *Am J Med* 2006;119:10-6.
- [71] Morino K, Petersen KF, Shulman GI. Molecular mechanisms of insulin resistance in humans and their potential links with mitochondrial dysfunction. *Diabetes* 2006;55:9-15.
- [72] Cree-Green M, Triolo TM, Nadeau KJ. Etiology of insulin resistance in youth with type 2 diabetes. *Curr Diab Rep* 2013;13:81-8.
- [73] Summers SA. Ceramides in insulin resistance and lipotoxicity. *Prog Lipid Res* 2006;45:42-72.
- [74] Rachek LI. Free fatty acids and skeletal muscle insulin resistance. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2014;121:267-92.
- [75] Samuel VT, Shulman GI. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *J Clin Invest* 2016;126:12-22.
- [76] DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009;2:157-63.

- [77] Galgani JE, Moro C, Ravussin E. Metabolic flexibility and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008;295:1009-17.
- [78] Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, DiPietro L, Vogel SM, Rothman DL, et al. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ¹H NMR spectroscopy study. *Diabetologia* 1999;42:113-6.
- [79] Kelley DE, Goodpaster BH, Storlien L. Muscle triglyceride and insulin resistance. *Annu Rev Nutr* 2002;22:325-46.
- [80] Brøns C, Grønnet LG. Mechanisms in endocrinology: Skeletal muscle lipotoxicity in insulin resistance and type 2 diabetes: a causal mechanism or an innocent bystander? *Eur J Endocrinol* 2017;176:67-78.
- [81] Savage DB, Petersen KF, Shulman GI. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. *Physiol Rev* 2007;87:507-20.
- [82] Engin AB. What Is Lipotoxicity? *Adv Exp Med Biol* 2017;960:197-220.
- [83] Wiesinger GF, Quittan M, Nuhr M, Volc-Platzer B, Ebenbichler G, Zehetgruber M, et al. Aerobic capacity in adult dermatomyositis/polymyositis patients and healthy controls. *Arch Phys Med Rehabil* 2000;81:1-5.
- [84] Dastmalchi M, Alexanderson H, Loell I, Ståhlberg M, Borg K, Lundberg IE, et al. Effect of physical training on the proportion of slow-twitch type I muscle fibers, a novel nonimmune-mediated mechanism for muscle impairment in polymyositis or dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2007;57:1303-10.
- [85] Meyer A, Laverny G, Allenbach Y, Grelet E, Ueberschlag V, Echaniz-Laguna A, et al. IFN- β -induced reactive oxygen species and mitochondrial damage contribute to muscle impairment and inflammation maintenance in dermatomyositis. *Acta Neuropathol* 2017;134:655-66.
- [86] Shadrin IY, Khodabukus A, Bursac N. Striated muscle function, regeneration, and repair. *Cell Mol Life Sci* 2016;73:4175-202.
- [87] Tidball JG. Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system. *Nat Rev Immunol* 2017;17:165-78.
- [88] Sciorati C, Clementi E, Manfredi AA, Rovere-Querini P. Fat deposition and accumulation in the damaged and inflamed skeletal muscle: cellular and molecular players. *Cell Mol Life Sci* 2015;72:2135-56.
- [89] Perandini LA, Chimin P, Lutkemeyer DDS, Câmara NOS. Chronic inflammation in skeletal muscle impairs satellite cells function during regeneration: can physical exercise restore the satellite cell niche? *FEBS J* 2018;285:1973-84.
- [90] Dey D, Goldhamer DJ, Yu PB. Contributions of muscle-resident progenitor cells to homeostasis and disease. *Curr Mol Biol Rep* 2015;1:175-88.

- [91] Malecova B, Gatto S, Etxaniz U, Passafaro M, Cortez A, Nicoletti C, et al. Dynamics of cellular states of fibro-adipogenic progenitors during myogenesis and muscular dystrophy. *Nat Commun* 2018;9:3670.
- [92] Dong Y, Silva KA, Dong Y, Zhang L. Glucocorticoids increase adipocytes in muscle by affecting IL-4 regulated FAP activity. *FASEB J* 2014;28:4123-32.
- [93] Pagano AF, Brioché T, Arc-Chagnaud C, Demangel R, Chopard A, Py G. Short-term disuse promotes fatty acid infiltration into skeletal muscle. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2018;9:335-47.
- [94] Penton CM, Thomas-Ahner JM, Johnson EK, McAllister C, Montanaro F. Muscle side population cells from dystrophic or injured muscle adopt a fibro-adipogenic fate. *PLoS One* 2013;8:e54553.
- [95] Lukjanenko L, Karaz S, Stuelsatz P, Gurriaran-Rodriguez U, Michaud J, Dammone G, et al. Aging disrupts muscle stem cell function by impairing matricellular WISP1 secretion from fibro-adipogenic progenitors. *Cell Stem Cell* 2019;16:129-36.
- [96] Gordon BS, Kelleher AR, Kimball SR. Regulation of muscle protein synthesis and the effects of catabolic states. *Int J Biochem Cell Biol* 2013;45:2147-57.
- [97] de Souza JM, de Oliveira DS, Perin LA, Misse RG, Dos Santos AM, Gualano B, et al. Feasibility, safety and efficacy of exercise training in immune-mediated necrotising myopathies: a quasi-experimental prospective study. *Clin Exp Rheumatol* 2019;37:235-41.
- [98] Motahari-Tabari N, Ahmad Shirvani M, Shirzad-E-Ahoodashty M, Yousefi-Abdolmaleki E, Teimourzadeh M. The effect of 8 weeks aerobic exercise on insulin resistance in type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Glob J Health Sci* 2014;7:115-21.
- [99] Di Meo S, Iossa S, Venditti P. Improvement of obesity-linked skeletal muscle insulin resistance by strength and endurance training. *J Endocrinol* 2017;234:159-81.
- [100] Benatti FB, Miyake CNH, Dantas WS, Zambelli VO, Shinjo SK, Pereira RMR, et al. Exercise increases insulin sensitivity and skeletal muscle ampk expression in systemic lupus erythematosus: A randomized controlled trial. *Front Immunol* 2018;9:906.
- [111] Zierath JR, Krook A, Wallberg-Henriksson H. Insulin action and insulin resistance in human skeletal muscle. *Diabetologia* 2000;43:821-35.
- [112] Hardie DG, Carling D. The AMP-activated protein kinase: fuel gauge of the mammalian cell? *Eur J Biochem* 1997;246:259-73.
- [113] Pauli, JR, Dennys EC, Claudio TS, Eduardo RR. Novos mecanismos pelos quais o exercício físico melhora a resistência à insulina no músculo esquelético. *Rev Bras Endocr Metab*, 2009;15:10-17.
- [114] Wright DC. Mechanisms of calcium-induced mitochondrial biogenesis and GLUT4 synthesis. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007;32:840-5.

- [115] Merry TL, McConell GK. Skeletal muscle glucose uptake during exercise: a focus on reactive oxygen species and nitric oxide signaling. *IUBMB Life* 2009;61:479-84.
- [116] Manini TM, Clark BC, Nalls MA, Goodpaster BH, Ploutz-Snyder LL, Harris TB. Reduced physical activity increases intermuscular adipose tissue in healthy young adults. *Am J Clin Nutr* 2007;85:377-84.
- [117] Ryan AS, Dobrovolsky CL, Smith GV, Silver KH, Macko RF. Hemiparetic muscle atrophy and increased intramuscular fat in stroke patients. *Arch Phys Med Rehabil*. 2002;83:1703-7.
- [118] Gorgey AS, Dudley GA. Skeletal muscle atrophy and increased intramuscular fat after incomplete spinal cord injury. *Spinal Cord* 2007;45:304-9.
- [119] Kim HJ, Lee JS, Kim CK. Effect of exercise training on muscle glucose transporter 4 protein and intramuscular lipid content in elderly men with impaired glucose tolerance. *Eur J Appl Physiol* 2004;93:353-8.
- [120] Ikenaga M, Yamada Y, Kose Y, Morimura K, Higaki Y, Kiyonaga A, et al. Effects of a 12-week, short-interval, intermittent, low-intensity, slow-jogging program on skeletal muscle, fat infiltration, and fitness in older adults: randomized controlled trial. *Eur J Appl Physiol* 2017;117:7-15.
- [121] Dubé JJ, Broskey NT, Despines AA, Stefanovic-Racic M, Toledo FG, Goodpaster BH, et al. Muscle characteristics and substrate energetics in lifelong endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc* 2016;48:472-80.
- [122] Nakagawa Y, Hattori M. Intramyocellular lipids of muscle type in athletes of different sport disciplines. *Open Access J Sports Med* 2017;8:161-166.
- [123] Koh HE, Nielsen J, Saltin B, Holmberg HC, Ørtenblad N. Pronounced limb and fibre type differences in subcellular lipid droplet content and distribution in elite skiers before and after exhaustive exercise. *J Physiol* 2017;595:5781-95.
- [124] Pruchnic R, Katsiaras A, He J, Kelley DE, Winters C, Goodpaster BH. Exercise training increases intramyocellular lipid and oxidative capacity in older adults. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;287:57-62.
- [125] Tarnopolsky MA, Rennie CD, Robertshaw HA, Fedak-Tarnopolsky SN, Devries MC, Hamadeh MJ. Influence of endurance exercise training and sex on intramyocellular lipid and mitochondrial ultrastructure, substrate use, and mitochondrial enzyme activity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007;292:71-8.
- [126] McCormack SE, McCarthy MA, Harrington SG, Farilla L, Hrovat MI, Systrom DM, et al. Effects of exercise and lifestyle modification on fitness, insulin resistance, skeletal muscle oxidative phosphorylation and intramyocellular lipid content in obese children and adolescents. *Pediatr Obes* 2014;9:281-91.

- [127] St-Jean-Pelletier F, Pion CH, Leduc-Gaudet JP, Sgarioto N, Zovilé I, Barbat-Artigas S, et al. The impact of ageing, physical activity, and pre-frailty on skeletal muscle phenotype, mitochondrial content, and intramyocellular lipids in men. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2017;8:213-28.
- [128] Goodpaster BH, He J, Watkins S, Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance-trained athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5755-61.
- [129] 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;138:1464-74.
- [130] Hoogendijk JE, Amato AA, Lecky BR, Choy EH, Lundberg IE, Rose MR, et al. 119th ENMC international workshop: trial design in adult idiopathic inflammatory myopathies, with the exception of inclusion body myositis, *Neuromuscul Disord* 2004;337-45.
- [131] Ekdahl C, Eberhardt K, Andersson SI, Svensson B. Assessing disability in patients with rheumatoid arthritis. Use of a Swedish version of the Stanford Health Assessment Questionnaire. *Scand J Rheumatol* 1988;17:263-71.
- [132] 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;48:134-9.
- [133] Rider LG, Miller FW. Classification and treatment of the juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Rheum Dis Clin North Am* 1997;23:619-55.
- [134] Rider LG, Giannini EH, Harris-Love M, Joe G, Isenberg D, Pilkington C, Lachenbruch PA, Miller FW; International Myositis Assesment and Clinical Studies Group. Defining clinical improvement in adult and juvenile myositis. *J Rheumatol* 2003;30:603-17.
- [135] Miller FW, Rider LG, Chung YL, Cooper R, Danko K, Farewell Vet al. International Myositis Outcome Assessment Collaborative Study Group. Proposed preliminary core set measures for disease outcome assessment in adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Rheumatology (Oxford)* 2001;40:1262-73.
- [136] Poole DC, Barstow TJ, McDonough P, Jones AM. Control of oxygen uptake during exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2008;40:462-74.
- [137] Wasserman K, Whipp BJ, Koysl SN, Beaver WL. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J Appl Physiol* 1973;35:236-43.
- [138] Brown LE, Weir JP. ASEP procedures recommendation I: accurate assessment of muscular strength and power. *J Exerc Phys* 2001;20:101-5.
- [139] Newcomer KL, Krug HE, Mahowald ML. Validity and reliability of the timed-stands test for patients with rheumatoid arthritis and other chronic diseases. *J Rheumatol* 1993;20:21-7.

- [140] Podsiadlo D, Richardson S. The timed "Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons. *J Am Geriatr Soc* 1991;39:142-8.
- [141] Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
- [142] Radikova Z, Koska J, Huckova M, Ksinantova L, Imrich R, Vigas M, et al. Insulin sensitivity indices: a proposal of cut-off points for simple identification of insulin-resistant subjects. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006;114:249-56.
- [143] Heald AH, Anderson SG, Patel J, Rudenski A, Vyas A, Yates A et al. Change in pancreatic B-cell function (HOMA-B) varies in different populations with similar genetic backgrounds but different environments. *Diabet Med* 2007;24:145-53.
- [144] Abdul-Ghani MA, Matsuda M, Balas B, DeFronzo RA. Muscle and liver insulin resistance indexes derived from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care* 2007;30:89-94.
- [145] Tarnopolsky MA, Pearce E, Smith K, Lach B. Suction-modified Bergström muscle biopsy technique: experience with 13,500 procedures. *Muscle Nerve* 2011;43:717-25.
- [146] Koopman R, Schaart G, Hesselink MK. Optimisation of Oil Red O staining permits combination with immunofluorescence and automated quantification of lipids. *Histochem Cell Biol* 2001;116:63-8.
- [147] Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S, Batut P, Chaisson M, Gingeras TR. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*. 2013;29:15-21.
- [148] Li B, Dewey CN. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC Bioinformatics*. 2011;12:323.
- [149] Liao Y, Smyth GK, Shi W. FeatureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics*. 2014;30:923-930.
- [150] Borg G, Ljunggren G, Ceci R. The increase of perceived exertion aches and pain in the legs, heart rate and blood lactate during exercise on a bicycle ergometer. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1985;54:343-9.
- [151] Alemo Munters L, Dastmalchi M, Katz A, Esbjörnsson M, Loell I, Hanna B, et al. Improved exercise performance and increased aerobic capacity after endurance training of patients with stable polymyositis and dermatomyositis. *Arthritis Res Ther* 2013;15:R83.
- [152] Coley W, Rayavarapu S, Nagaraju K. Role of non-immune mechanisms of muscle damage in idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Res Ther* 2012;14:209.
- [153] Lightfoot AP, McArdle A, Jackson MJ, Cooper RG. In the idiopathic inflammatory myopathies (IIM), do reactive oxygen species (ROS) contribute to muscle weakness? *Ann Rheum Dis* 2015;74:1340-6.

- [154] Manole E, Bastian AE, Butoianu N, Goebel HH. Myositis non-inflammatory mechanisms: An up-dated review. *J Immunoassay Immunochem* 2017;38:115-126.
- [155] Lillioja S, Young AA, Culter CL, Ivy JL, Abbott WG, Zawadzki JK, et al. Skeletal muscle capillary density and fiber type are possible determinants of in vivo insulin resistance in man. *J Clin Invest* 1987;80:415-24.
- [156] Choi SJ, Files DC, Zhang T, Wang ZM, Messi ML, Gregory H, et al. Intramyocellular lipid and impaired myofiber contraction in normal weight and obese older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2016;71:557-64.
- [157] Poulsen KB, Alexanderson H, Dalgård C, Jacobsen S, Weile L, Diederichsen LP. Quality of life correlates with muscle strength in patients with dermato- or polymyositis. *Clin Rheumatol* 2017;36:2289-95.
- [158] Maughan RJ, Watson JS, Weir J. Strength and cross-sectional area of human skeletal muscle. *J Physiol* 1983;338:37-49.
- [159] Nader GA, Dastmalchi M, Alexanderson H, Grundtman C, Gernapudi R, Esbjörnsson M, et al. A longitudinal, integrated, clinical, histological and mRNA profiling study of resistance exercise in myositis. *Mol Med* 2010;16:455-64.
- [160] Cancino RJ, Soto SJ, Zbinden FH, Moreno GM, Leyton DB, González RL. Cardiorespiratory fitness and fat oxidation during exercise as protective factors for insulin resistance in sedentary women with overweight or obesity. *Nutr Hosp* 2018;35:312-7.
- [161] Yates T, Henson J, Edwardson C, Dunstan D, Bodicoat DH, Khunti K, Davies MJ. Objectively measured sedentary time and associations with insulin sensitivity: Importance of reallocating sedentary time to physical activity. *Prev Med* 2015;76:79-83.
- [162] Jelleyman C, Edwardson CL, Henson J, Gray LJ, Rowlands AV, Khunti K, et al. Associations of physical activity intensities with markers of insulin sensitivity. *Med Sci Sports Exerc* 2017;49:2451-8.
- [163] Duvivier BM, Schaper NC, Hesselink MK, van Kan L, Stienen N, Winkens B, et al. Breaking sitting with light activities vs structured exercise: A randomised crossover study demonstrating benefits for glycaemic control and insulin sensitivity in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2017;60:490-8.
- [164] Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med* 2013;7:14-24.
- [165] Akazawa N, Okawa N, Tamura K, Moriyama H. Relationships between intramuscular fat, muscle strength and gait independence in older women: A cross-sectional study. *Geriatr Gerontol Int* 2017;17:1683-8.
- [166] Robles PG, Sussman MS, Naraghi A, Brooks D, Goldstein RS, White LM, Mathur S. Intramuscular fat infiltration contributes to impaired muscle function in COPD. *Med Sci Sports Exerc* 2015;47:1334-41.

- [167] Vivodtzev I, Moncharmont L, Tamisier R, Borel JC, Arbib F, Wuyam B et al. Quadriceps muscle fat infiltration is associated with cardiometabolic risk in COPD. *Clin Physiol Funct Imaging* 2018;38:788-97.
- [168] Khoja SS, Moore CG, Goodpaster BH, Delitto A, Piva SR. skeletal muscle fat and its association with physical function in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2018;70:333-42.
- [169] Richter EA, Hargreaves M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiol Rev* 2013;93:993-1017.
- [170] Holloszy JO. Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. *J Appl Physiol* (1985) 2005;99:338-43.
- [171] McGee SL, Hargreaves M. Exercise and skeletal muscle glucose transporter 4 expression: molecular mechanisms. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006;33:395-9.
- [172] Holloszy JO. Regulation of mitochondrial biogenesis and GLUT4 expression by exercise. *Compr Physiol* 2011;1:921-40.
- [173] Kjøbsted R, Wojtaszewski JF, Treebak JT. Role of AMP-activated protein kinase for regulating post-exercise insulin sensitivity. *Exp Suppl* 2016;107:81-126.
- [174] Itani SI, Saha AK, Kurowski TG, Coffin HR, Tornheim K, Ruderman NB. Glucose autoregulates its uptake in skeletal muscle: involvement of AMP-activated protein kinase. *Diabetes* 2003;52:1635-40.
- [175] Kjøbsted R, Hingst JR, Fentz J, Foretz M, Sanz MN, Pehmøller C, et al. AMPK in skeletal muscle function and metabolism. *FASEB J* 2018;32:1741-77.
- [176] Gan Z, Fu T, Kelly DP, Vega RB. Skeletal muscle mitochondrial remodeling in exercise and diseases. *Cell Res* 2018;28:969-80.
- [177] Winder WW, Taylor EB, Thomson DM. Role of AMP-activated protein kinase in the molecular adaptation to endurance exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38:1945-9.
- [178] Puigserver P, Spiegelman BM. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha): transcriptional coactivator and metabolic regulator. *Endocr Rev* 2003;24:78-90.
- [179] Puigserver P. Tissue-specific regulation of metabolic pathways through the transcriptional coactivator PGC1-alpha. *Int J Obes (Lond)* 2005;29:5-9.
- [180] Cannavino J, Brocca L, Sandri M, Bottinelli R, Pellegrino MA. PGC1- α over-expression prevents metabolic alterations and soleus muscle atrophy in hindlimb unloaded mice. *J Physiol* 2014;592:4575-89.
- [181] Southern WM, Nichenko AS, Tehrani KF, McGranahan MJ, Krishnan L, Qualls AE et al. PGC-1 α overexpression partially rescues impaired oxidative and contractile pathophysiology following volumetric muscle loss injury. *Sci Rep* 2019;9:4079.

- [182] Gorgey AS, Witt O, O'Brien L, Cardozo C, Chen Q, Lesnfsky EJ, et al. Mitochondrial health and muscle plasticity after spinal cord injury. *Eur J Appl Physiol* 2019;119:315-31.
- [183] Guevel L, Lavoie JR, Perez-Iratxeta C, Rouger K, Dubreil L, Feron M, et al. Quantitative proteomic analysis of dystrophic dog muscle. *J Proteome Res* 2011;10:2465-78.
- [184] Thirupathi A, de Souza CT. Multi-regulatory network of ROS: the interconnection of ROS, PGC-1 alpha, and AMPK-SIRT1 during exercise. *J Physiol Biochem.* 2017;73:487-94.
- [185] Eisele PS, Furrer R, Beer M, Handschin C. The PGC-1 coactivators promote an anti-inflammatory environment in skeletal muscle in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2015;464:692-7.
- [186] Jiao J, Demontis F. Skeletal muscle autophagy and its role in sarcopenia and organismal aging. *Curr Opin Pharmacol* 2017;34:1-6.
- [187] Parzych KR, Klionsky DJ. An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation. *Antioxid Redox Signal* 2014;20:460-73.
- [188] Henriques-Pons A, Nagaraju K. Nonimmune mechanisms of muscle damage in myositis: role of the endoplasmic reticulum stress response and autophagy in the disease pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol* 2009;21:581-7.
- [189] Cappelletti C, Galbardi B, Kapetis D, Vattemi G, Guglielmi V, Tonin P et al. Autophagy, inflammation and innate immunity in inflammatory myopathies. *PLoS One* 2014;9:e111490.
- [190] Vainshtein A, Hood DA. The regulation of autophagy during exercise in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2016;120:664-73.
- [191] Lira VA, Okutsu M, Zhang M, Greene NP, Laker RC, Breen DS, et al. Autophagy is required for exercise training-induced skeletal muscle adaptation and improvement of physical performance. *FASEB J* 2013;27:4184-93.
- [192] Halling JF, Ringholm S, Nielsen MM, Overby P, Pilegaard H. PGC-1 α promotes exercise-induced autophagy in mouse skeletal muscle. *Physiol Rep* 2016;4:pii: e12698.
- [193] Meyer A, Laverny G, Allenbach Y, Grelet E, Ueberschlag V, Echaniz-Laguna A, et al. IFN- β -induced reactive oxygen species and mitochondrial damage contribute to muscle impairment and inflammation maintenance in dermatomyositis. *Acta Neuropathol* 2017;134:655-66.
- [194] Boehler JF, Horn A, Novak JS, Li N, Ghimbovski S, Lundberg IE, et al. Mitochondrial dysfunction and role of harakiri in the pathogenesis of myositis. *J Pathol* 2019;249:215-26.
- [195] Triolo M, Hood DA. Mitochondrial breakdown in skeletal muscle and the emerging role of the lysosomes. *Arch Biochem Biophys* 2019;661:66-73.
- [196] Settembre C, Di Malta C, Polito VA, Garcia Arencibia M, Vetrini F, Erdin S, et al. TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis. *Science* 2011;332:1429-3.
- [197] Erlich AT, Brownlee DM, Beyfuss K, Hood DA. Exercise induces TFEB expression and activity in skeletal muscle in a PGC-1 α -dependent manner. *Am J Physiol Cell Physiol* 2018;314:62-72.

- [198] Bilodeau PA, Coyne ES, Wing SS. The ubiquitin proteasome system in atrophying skeletal muscle: roles and regulation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2016;311:392-403.
- [199] Ciechanover A, Schwartz AL. The ubiquitin-proteasome pathway: the complexity and myriad functions of proteins death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:2727-30.
- [200] Wing SS. Deubiquitinases in skeletal muscle atrophy. *Int J Biochem Cell Biol* 2013;45:2130-5.
- [201] Glickman MH, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol Rev* 2002;82:373-428.
- [202] Rayavarapu S, Coley W, Van der Meulen JH, Cakir E, Tappeta K, Kinder TB et al. Activation of the ubiquitin proteasome pathway in a mouse model of inflammatory myopathy: a potential therapeutic target. *Arthritis Rheum* 2013;65:3248-58.
- [203] Henriques-Pons A, Nagaraju K. Nonimmune mechanisms of muscle damage in myositis: role of the endoplasmic reticulum stress response and autophagy in the disease pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol* 2009;21:581-7.
- [204] Choi MH, Ow JR, Yang ND, Taneja R. oxidative stress-mediated skeletal muscle degeneration: molecules, mechanisms, and therapies. *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016:6842568.
- [205] Afroze D, Kumar A. ER stress in skeletal muscle remodeling and myopathies. *FEBS J* 2019;286:379-98.
- [206] Shang F, Taylor A. Ubiquitin-proteasome pathway and cellular responses to oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2011;51:5-16.
- [207] Campos F, Abrigo J, Aguirre F, Garcés B, Arrese M, Karpen S, et al. Sarcopenia in a mice model of chronic liver disease: role of the ubiquitin-proteasome system and oxidative stress. *Pflugers Arch* 2018;470:1503-19.
- [208] Kadoguchi T, Shimada K, Miyazaki T, Kitamura K, Kunimoto M, Aikawa T, et al. Promotion of oxidative stress is associated with mitochondrial dysfunction and muscle atrophy in aging mice. *Geriatr Gerontol Int* 2020;19:78-84.

ANEXOS

9. Anexos

9.1. Aprovação do projeto de pesquisa



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA
USP - HCFMUSP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos do treinamento físico no conteúdo lipídico, angiogênese e resistência à ação da insulina no músculo esquelético de pacientes com miopatias inflamatórias idiopáticas: ensaio clínico controlado e randomizado

Pesquisador: Samuel Katsuyuki Shinjo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 61474416.5.0000.0068

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

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.815.296

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um ensaio clínico e aleatorizado a ser realizado em pacientes com miopatias inflamatórias idiopáticas (dermatomiosite e polimiosite) que avaliará 40 pacientes divididos em um grupo que participará de um programa de treinamento físico ou um grupo não treinado (N=20, cada). O projeto avaliará a capacidade física, a função endotelial, análise histológica e bioquímica em biópsia muscular e avaliação nutricional

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos do presente estudo é avaliar os efeitos do treinamento físico na resistência periférica a ação da insulina do músculo esquelético, no conteúdo lipídico do músculo esquelético e na angiogênese do músculo esquelético de pacientes com miopatias inflamatórias idiopáticas

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os maiores riscos deste estudo são a submissão a um esforço físico máximo e a análise de biópsia muscular e os pesquisadores apresentam experiência nestas variáveis

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo clinicamente relevante que está adequadamente escrito e dentro das

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



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA
USP - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 1.815.296

questões éticas requeridas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos apresentados estão adequados

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

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

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_793299.pdf	27/10/2016 19:06:44		Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	24/10/2016 20:55:14	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Outros	Documento.pdf	24/10/2016 20:55:01	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PACIENTES.pdf	13/10/2016 12:24:35	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CONTROLE.pdf	13/10/2016 12:24:27	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.doc	26/09/2016 11:53:50	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Outros	Carta3.pdf	25/09/2016 16:59:59	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Outros	Carta2.pdf	25/09/2016 16:59:41	Samuel Katsuyuki Shinjo	Aceito
Outros	Carta1.pdf	25/09/2016	Samuel Katsuyuki	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

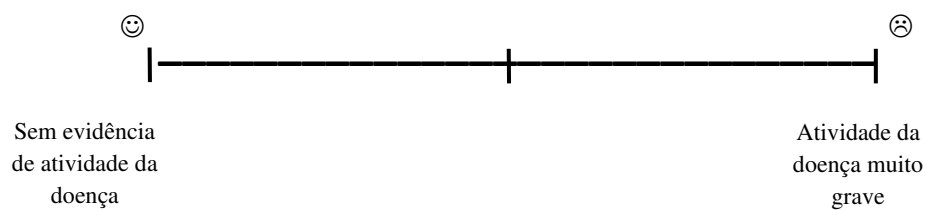
Fax: (11)2661-7585

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

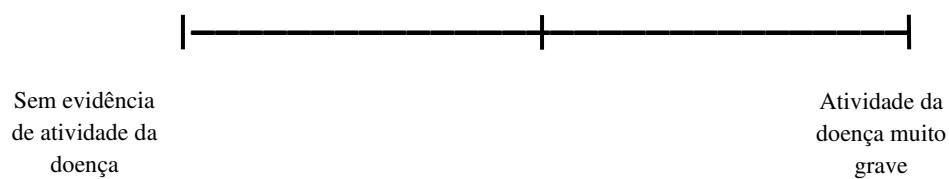
9.2. Questionários

EVA

Escala Visual Analógica (Paciente):



Escala Visual Analógica (Médico):



MMT (lado direito, 0-10)

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

MITAX / MYOACT (Nas últimas 4 semanas; características atribuídas à miopatia)

(0=ausente; 1=melhorou; 2=igual; 3=piorou; 4=nova; NA=não aplicável)

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

31. ATIVIDADE DA DOENÇA: <i>CONSTITUCIONAL</i>	0	10
32. ATIVIDADE DA DOENÇA: <i>ESQUELÉTICA</i>	0	10
33. ATIVIDADE DA DOENÇA: <i>GASTRINTESTINAL</i>	0	10
34. ATIVIDADE DA DOENÇA: <i>PULMONAR</i>	0	10
35. ATIVIDADE DA DOENÇA: <i>CARDIOVASCULAR</i>	0	10
36. ATIVIDADE DA DOENÇA: <i>OUTRAS</i>	0	10
37. AVALIAÇÃO GLOBAL EXTRA-MUSCULAR:	0	10
38. ATIVIDADE DA DOENÇA: <i>MUSCULAR</i>	0	10
39. ATIVIDADE DA DOENÇA: <i>GLOBAL</i>	0	10
40. ATIVIDADE DA DOENÇA: <i>CUTÂNEA</i>	0	10

HAQ**Capacidade habitual DURANTE A SEMANA PASSADA**

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

9.3. Artigos publicados

Oliveira DS, Misse R, Lima FR, Shinjo SK. Physical exercise among patients with systemic autoimmune myopathies. *Advances in Rheumatology* 2018;58:5.

de Oliveira et al. *Advances in Rheumatology* (2018) 58:5
<https://doi.org/10.1186/s42358-018-0004-1>

Advances in Rheumatology

REVIEW

Open Access



Physical exercise among patients with systemic autoimmune myopathies

Diego Sales de Oliveira¹, Rafael Giovani Misse¹, Fernanda Rodrigues Lima² and Samuel Katsuyuki Shinjo^{1*}

Abstract

Systemic autoimmune myopathies (SAMs) are a heterogeneous group of rare systemic autoimmune diseases that primarily affect skeletal muscles. Patients with SAMs show progressive skeletal muscle weakness and consequent functional disabilities, low health quality, and sedentary lifestyles. In this context, exercise training emerges as a non-pharmacological therapy to improve muscle strength and function as well as the clinical aspects of these diseases. Because many have feared that physical exercise exacerbates inflammation and consequently worsens the clinical manifestations of SAMs, it is necessary to evaluate the possible benefits and safety of exercise training among these patients. The present study systematically reviews the evidence associated with physical training among patients with SAMs.

Keywords: Dermatomyositis, Physical exercise, Myositis, Polymyositis

Misse RG, Oliveira DS, Lima FR, Shinjo SK. Tratamento não medicamentoso: exercícios físicos em miopatias autoimunes sistêmicas. *Revista Paulista de Reumatologia* 2018;16:21-24.

Tratamento não medicamentoso: exercícios físicos em miopatias autoimunes sistêmicas

RAFAEL GIOVANE MISSÉ¹ | DIEGO SALES DE OLIVEIRA²

FERNANDA RODRIGUES LIMA³ | SAMUEL KATSUYUKI SHINJO⁴

INTRODUÇÃO

Por muito tempo programas de treinamento físico em pacientes com miopatias autoimunes sistêmicas foram considerados um importante paradoxo.

O racional era que a prática de exercícios físicos pudesse piorar a inflamação e consequentemente agravar as manifestações clínicas dessas doenças¹. Entretanto, hoje em dia, sabe-se que o treinamento de força muscular, aeróbio e a combinação de força e aeróbio em diferentes intensidades, volumes e frequências tem promovido efeitos positivos na força, funcionalidade muscular e até melhora da capacidade aeróbia e funcional dos doentes com miopatias autoimunes sistêmicas²⁻²⁹, mostrada na Figura 1.

Nesse contexto, o objetivo desta revisão é discutir aspectos básicos a respeito dos diferentes tipos de exercícios de força ou aeróbio, visando a elucidar o importante papel do exercício físico nas miopatias autoimunes, particularmente, dermatomiosite (DM) e polimiosite (PM).

combinação de força e aeróbio praticados em uma mesma sessão, como ilustrada na Tabela 1²⁻³⁰.

Em pacientes com PM/DM estáveis, tem sido descritos programas de treinamento físico que variam de 3 a 12 semanas²⁻¹¹. Os principais estudos investigaram os efeitos do treinamento de força, aeróbio, combinado e até mesmo treinamento intensivo e de alta intensidade, os quais avaliaram principalmente a segurança, eficiência do treinamento físico, resposta inflamatória e aptidão aeróbia²⁻¹¹.

Os primeiros programas de treinamento físico em pacientes com PM/DM estáveis avaliaram os efeitos do treinamento de força isométrico em um paciente com PM submetido a exercícios de

Oliveira DS, Borges IBP, Souza JM, Gualano B, Pereira RM, Shinjo SK. Exercise training attenuates insulin resistance and improves β -cell function in patients with systemic autoimmune myopathies: a pilot study. *Clinical Rheumatology* 2019;38:3435-42.

Clinical Rheumatology
https://doi.org/10.1007/s10067-019-04738-4

ORIGINAL ARTICLE



Exercise training attenuates insulin resistance and improves β -cell function in patients with systemic autoimmune myopathies: a pilot study

Diego Sales de Oliveira¹ · Isabela Bruna Pires Borges¹ · Jean Marcos de Souza¹ · Bruno Gualano¹ · Rosa Maria Rodrigues Pereira¹ · Samuel Katsuyuki Shinjo¹

Received: 15 May 2019 / Revised: 29 July 2019 / Accepted: 4 August 2019
© International League of Associations for Rheumatology (ILAR) 2019

Abstract

Introduction/objectives To assess the effects of exercise training on insulin resistance and β -cell function in patients with systemic autoimmune myopathies (SAMs).

Method This quasi-experimental, prospective study includes 9 patients with SAMs (six with dermatomyositis, two with antisynthetase syndrome, and one with polymyositis). Patients were submitted to a 12-week, twice a week, exercise training program comprising aerobic and resistance exercises. Baseline and after the intervention, we evaluated disease status, aerobic capacity, muscle strength, body composition, insulin resistance, and β -cell function parameters.

Results The patients have a mean age of 46.7 years and stable disease. No clinical or laboratory parameter impairment was observed after the intervention. Compared with baseline, aerobic capacity, muscle strength, and function increased after 12 weeks ($P < 0.05$), while no changes were observed for body composition. Data from the oral glucose tolerance test showed that exercise did not change glucose area under the curve (AUC), whereas insulin and C-peptide AUC decreased significantly ($P < 0.05$). Furthermore, Matsuda index and HOMA2 percentage (both surrogates of insulin resistance) also improved ($P < 0.05$).

Conclusion Exercise training improved aerobic capacity, muscle strength, and muscle function in patients with SAMs. In addition, exercise training led to an attenuation of insulin resistance and improvements in β -cell function parameters. These data indicate that exercise training can mitigate metabolic impairments, attenuating the cardiovascular risk in SAMs.

Souza JM, Oliveira DS, Perin LA, Misse RG, Santos AM, Gualano B, Pinto AS, Roschel H, Lima FR, Shinjo SK. Feasibility, safety and efficacy of exercise training in immune-mediated necrotizing myopathies: a quasi-experimental prospective study. *Clinical and Experimental Rheumatology* 2019;37:235-41.

Feasibility, safety and efficacy of exercise training in immune-mediated necrotising myopathies: a quasi-experimental prospective study

J.M. de Souza¹, D.S. de Oliveira¹, L.A. Perin¹, R.G. Misse¹, A.M. dos Santos¹,
B. Gualano^{1,2}, A.L. de Sá Pinto¹, H. Roschel^{1,2}, F.R. Lima¹, S.K. Shinjo¹

¹*Division of Rheumatology, Hospital das Clinicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de Sao Paulo, Brazil;* ²*Applied Physiology and Nutrition Research Group, Universidade de Sao Paulo, Brazil.*

Abstract

Objective

To evaluate the feasibility, safety and efficacy of exercise training in patients with immune-mediated necrotising myopathies (IMNM).

Methods

Eight consecutive sedentary patients with IMNM (5 anti-signal recognition particle and 3 anti-hydroxy-methyl-glutaryl coenzyme A reductase) were engaged in this study. Disease status was based on International Myositis Assessment and Clinical Studies Group (IMACS) core set measures. Physical performance was evaluated by cardiopulmonary exercise test, repetition maximum (RM) protocol, handgrip dynamometry, sit-to-stand (STS) and timed up-and-go (TUG) tests.

All these parameters were measured at baseline and after a 12-week, twice-a-week, supervised exercise training comprising aerobic and strength exercises.

Results

Patients (aged 61 years on average) were very disabled at the beginning of the disease (mean duration of 17.7 months), but after being aggressively treated with a treat-to-target approach, they presented only mild symptoms that were well-controlled with oral immunosuppression and low disease status scores by the time of the exercise intervention. No disease relapsing, worsening of the IMACS set scores or adverse events were observed throughout the training period. Patients also increased aerobic capacity (e.g. time to achieve anaerobic threshold and time to achieve exhaustion), muscle strength (e.g. 1RM bench press) and function (e.g. STS test).

Oliveira DS, Souza JM, Shinjo SK. Beyond medicine: Physical exercise should be always considered in patients with systemic autoimmune myopathies. *Autoimmunity Reviews* 2019;10:1-7.

Autoimmunity Reviews 18 (2019) 315–316



Contents lists available at ScienceDirect

Autoimmunity Reviews

journal homepage: www.elsevier.com/locate/autrev



Beyond medicine: Physical exercise should be always considered in patients with systemic autoimmune myopathies



Dear Prof. Shoenfeld,

Many years have passed since the first reports regarding physical exercises and systemic autoimmune myopathies (SAM) [1,2]. During all these years, we observed by many different means that, regardless of disease activity, the prescription of resistance or aerobic exercise seemed safe, without causing disease relapse [3]. Besides, we have always nurtured a great conviction that exercise could not only improve physical condition and quality of life but also may reduce systemic inflammation.

With this philosophy, the respected Swedish myopathy group was the first to show that 7 weeks of strength training were capable not only of improving muscular function and of quality of life but of also modulating the gene expression related to muscle inflammation and fibrosis

delayed-onset muscle soreness, exactly how described in previous studies [13,14]. Alexanderson et al. [14] also described in many articles home-based programs, without adverse events. Therefore, we believe that all classic strengthening exercises can be performed in this population with substantial safety, as long as correct body support is provided, correct instructions are transmitted and correct weights are chosen, based on traditional models to do so [15]. In cases of extreme frailty, Mattar et al. [16] described that blood flow occlusion protocols in SAM is also safety.

Aerobic exercises seem to be also well tolerable in patients with MAS, with an unremarkable rate of adverse events in the heart rate that was study (between 50% and 70% of the maximal heart rate). It is striking, nevertheless, how aerobic capacity is low in this population at the beginning of the protocols, reinforcing how much the oxidative

Oliveira DS, Silva MG, Shinjo SK. Insulin resistance is increased in patients with dermatomyositis. MedicalExpress 2018;5:1-6.



ORIGINAL RESEARCH

Insulin resistance is increased in adult patients with dermatomyositis

Diego Sales de Oliveira¹, Marilda Silva Guimarães¹, Samuel Katsuyuki Shinjo¹

¹ Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina (FMUSP), Division of Rheumatology, São Paulo, SP, Brasil

OBJECTIVE: To evaluate insulinemia in glucocorticoid naïve patients with dermatomyositis and to evaluate insulin resistance using the homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA2-IR).

METHODS: This cross-sectional study included 25 dermatomyositis, non-diabetic glucocorticoid naïve patients. The control group consisted of 50 volunteers matched for age, gender, ethnicity, weight and height. The HOMA2-IR index was calculated from baseline insulin and glucose data. The International Myositis Assessment & Clinical Studies Group (IMACS) parameters were used to evaluate disease status.

RESULTS: Mean age of the patients was 43.5 years and these were predominantly females. Patients had low disease activity according to IMACS parameters. Higher body mass index and waist circumference were observed in the dermatomyositis group compared to the control group. Insulin level and HOMA2-IR were also higher in patients with dermatomyositis. Moreover, analyzing dermatomyositis alone, the HOMA2-IR index correlated positively with weight, body mass index and waist circumference and was independent on disease status parameters.

CONCLUSIONS: Patients with dermatomyositis had higher values for basal insulinemia, insulin resistance, body mass index and waist circumference. Moreover, HOMA2-IR moderately correlated with these anthropometric parameters. These metabolic abnormalities are related to the development of metabolic syndrome, one of the main comorbidities observed in dermatomyositis.

KEYWORDS: Glucose; insulin resistance; dermatomyositis; metabolic syndrome; myositis.

De Oliveira DS, Misse RG, Perin LA, dos Santos AM, de Souza JM, Lima FR, Costa-Hong V, Bortolotto LA, Shinjo SK. exercise training program improves endothelial function and physical capacity in a patient with hereditary inclusion body myopathy linked to a valosin-containing protein Pglyg97glu gene mutation. *Ann Orthop Musculoskelet Disord* 2018;1:1015.



Exercise Training Program Improves Endothelial Function and Physical Capacity in a Patient with Hereditary Inclusion Body Myopathy Linked to a Valosin-Containing Protein Pglyg97glu Gene Mutation

Diego Sales de Oliveira¹, Rafael Giovane Misse¹, Leticia Alves Perin¹, Alexandre Moura dos Santos¹, Jean Marcos de Souza¹, Fernanda Rodrigues Lima¹, Valéria Costa-Hong², Luiz Aparecido Bortolotto² and Samuel Katsulky Shinjo^{1*}

¹Department of Rheumatology, University of São Paulo, Brazil

²Department of Cardiology, University of São Paulo, Brazil

Abstract

Background: To assess the effects of an exercise training program on endothelial function, arterial stiffness, disease status and physical capacity in a patient with hereditary inclusion body Myopathy linked to a valosin-containing protein PglyG97Glu gene mutation.

Misse RG, Borges IBP, dos Santos AM, de Oliveira DS, de Souza JM, Gualano B, Hong VAC, Bortolotto LA, Shinjo SK. Effects of exercise training on endothelial function, arterial structure, and physical conditioning in patients with systemic autoimmune myopathies: a case series study. *Open Journal of Rheumatology and Autoimmune Diseases* 2019;9:57-68.



Open Journal of Rheumatology and Autoimmune Diseases, 2019, 9, 57-68

<http://www.scirp.org/journal/ojra>

ISSN Online: 2164-005X

ISSN Print: 2163-9914

Effects of Exercise Training on Endothelial Function, Arterial Structure, and Physical Conditioning in Patients with Systemic Autoimmune Myopathies: A Case Series Study

Rafael Giovanni Misse¹, Isabela Bruna Pires Borges¹, Alexandre Moura dos Santos¹,
Diego Sales de Oliveira¹, Jean Marcos de Souza¹, Bruno Gualano¹,
Valéria Aparecida Costa Hong², Luis Aparecido Bortolotto², Samuel Katsuyuki Shinjo^{1*}

¹Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de São Paulo, SP, Brazil

²Hypertension Unit, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, SP, Brazil

Email: *samuel.shinjo@gmail.com

How to cite this paper: Misse, R.G., Borges, I.B.P., dos Santos, A.M., de Oliveira, D.S., de Souza, J.M., Gualano, B., Hong, V.A.C., Bortolotto, L.A. and Shinjo, S.K. (2019) Effects of Exercise Training on Endothelial Function, Arterial Structure, and Physical Conditioning in Patients with Systemic Autoimmune Myopathies: A Case Series Study. *Open Journal of Rheumatology and Autoimmune Diseases*, 9, 57-68. <https://doi.org/10.4236/ojra.2019.92006>

Abstract

Introduction. Exercise training has been effective in improving endothelial function and decreasing arterial stiffness in several systemic autoimmune diseases. However, to date, no studies have assessed patients with systemic autoimmune myopathies (SAM). **Methods.** Five female patients with definite SAM (3 dermatomyositis and 2 polymyositis) who underwent a 12-week, twice-a-week, exercise training program were assessed prospectively. The following parameters were assessed: endothelial function measured by flow-mediated dilatation (FMD), carotid femoral by pulse wave velocity