

LILA MORENA BUENO DA SILVA

**Alta prevalência de padrão de miopatia necrosante em biópsias
musculares de pacientes com síndrome antissintetase com
autoanticorpos Anti-Jo-1 positivo**

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

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo

SÃO PAULO

2023

LILA MORENA BUENO DA SILVA

**Alta prevalência de padrão de miopatia necrosante em biópsias
musculares de pacientes com síndrome antissintetase com
autoanticorpos Anti-Jo-1 positivo**

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

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo

SÃO PAULO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, Lila Morena Bueno da
Alta prevalência de padrão de miopatia
necrosante em biópsias musculares de pacientes com
síndrome antissintetase com autoanticorpos Anti-Jo-1
positivo / Lila Morena Bueno da Silva. -- São
Paulo, 2023.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético.
Orientador: Samuel Katsuyuki Shinjo.

Descritores: 1.Doenças autoimunes 2.Necrose
3.Doenças raras 4.Histologia 5.Miosite

USP/FM/DBD-046/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

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

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

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

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

Nome: Lila Morena Bueno da Silva

Título: Alta prevalência de padrão de miopatia necrosante em biópsias musculares de pacientes com síndrome antissintetase com autoanticorpos Anti-Jo-1 positivo

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

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Ao meu amado esposo Júlio César e ao nosso futuro filho, Heitor, obrigada pela paciência nas horas de estudos, pelo companheiro, carinho e afeto. A vocês dedico todo o meu amor.

Ao meu amado pai, meu guia que tanto estimulou e despertou minha paixão pelo conhecimento, lhe dedico todo meu carinho e respeito.

À minha mãe querida, que segurou minhas mãos e guiou meus passos, obrigada por todo o amor e dedicação.

Ao meu amado irmão, que mesmo não estando mais fisicamente entre nós, sempre vibrou por cada uma de minhas vitórias e conquistas, obrigada por estar comigo em todos os momentos.

Sem vocês, nada disso seria possível!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo, pela paciência, pelos ensinamentos, dedicação e confiança. Saiba que é um exemplo para mim não apenas como professor, mas como uma pessoa ímpar, que levarei comigo por toda a vida.

À querida Isabela Borges, que me auxiliou e participou tão ativamente de todo o processo de desenvolvimento do trabalho atual, obrigada pelo carinho, pelos ensinamentos e pela paciência nos dias de laboratório.

Aos professores, colegas e funcionários do Serviço de Reumatologia e do Laboratório de Miopatias Inflamatórias da Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de São Paulo - SP, agradeço pelo empenho e dedicação diária, pois graças ao trabalho coletivo nos permite aprender diariamente, oferecer assistência de excelência à população e fomentar o desenvolvimento de novas pesquisas.

Aos pacientes, sem vocês essa pesquisa não seria possível, minha mais sincera gratidão.

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

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 01 |
| 1.1. Conceitos da síndrome antissintetase | 02 |
| 1.2. Critérios classificatórios da síndrome antissintetase..... | 03 |
| 1.3. Síndrome antissintetase e critérios histológicos..... | 04 |
| 2. OBJETIVOS | 07 |
| 3. PACIENTES E MÉTODO | 9 |
| 3.1. Desenho do estudo..... | 10 |
| 3.2. Pacientes | 10 |
| 3.3. Critérios de inclusão..... | 10 |
| 3.4. Critérios de exclusão | 11 |
| 3.5. Dados demográficos, antropométricos e clínicos ao diagnóstico | 11 |
| 3.6. Avaliação laboratorial | 13 |
| 3.7. Avaliação das biópsias musculares | 13 |
| 3.8. Análise estatística | 16 |
| 4. RESULTADOS | 17 |
| 4.1. Características da amostra | 18 |
| 4.2. Desfechos primários..... | 18 |

| | |
|---|-----------|
| 4.2.1. Características clínicas gerais e dados laboratoriais | 18 |
| 4.2.2. Parâmetros histológicos musculares | 20 |
| 4.2.3. Parâmetros miopatológicos | 20 |
| 4.3. Desfechos secundários | 26 |
| 4.3.1. Relação entre o padrão histológico e o padrão fenotípico | 26 |
| 5. DISCUSSÃO | 28 |
| 6. CONCLUSÕES | 34 |
| 7. REFERÊNCIAS | 36 |
| 8. ANEXOS | 43 |
| 8.1. Parecer de aprovação do projeto no comitê de ética | 44 |
| 8.2. Manuscrito | 47 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|------------|---|
| Anti-ARS | Anticorpos Anti-aminoacil-tRNA sintetases |
| Anti-HMGCR | Anticorpo <i>Anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase</i> |
| Anti-SRP | Anticorpo <i>Anti-signal recognition particle</i> |
| CVF | Capacidade vital forçada |
| CPK | Creatinofosfoquinase |
| DLCO | Capacidade de difusão de monóxido de carbono |
| ENMG | Eletroneuromiografia |
| FAN | Fator antinuclear |
| MAS | Miopatias autoimunes sistêmicas |
| MHC | Complexo principal de histocompatibilidade |
| MMT | <i>Manual Muscle Testing</i> |
| MRC | <i>Medical Research Council</i> |
| MNIM | Miopatia necrosante imunomediada |
| RM | Ressonância magnética |
| SAS | Síndrome antissintetase |
| VEF1 | Volume expiratório forçado no primeiro segundo |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Fluxograma da seleção dos pacientes | 19 |
| Figura 2 - Padrões miopatológicos..... | 25 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------------|--|----|
| Tabela 1 - | Características gerais dos pacientes ao diagnóstico da doença..... | 22 |
| Tabela 2 - | Análise histológica de biópsias musculares | 23 |
| Tabela 3 - | Análise imuno-histoquímica | 24 |
| Tabela 4 - | Comparação entre pacientes com biópsias musculares com padrão de miopatia necrosante e outros padrões no momento da biópsia muscular: características demográficas, clínicas, tratamento e padrão histológico..... | 27 |

RESUMO

Silva LMB. *Alta prevalência de padrão de miopatia necrosante em biópsias musculares de pacientes com síndrome antissintetase com autoanticorpos Anti-Jo-1 positivo* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

Introdução: A síndrome antissintetase (SAS) é uma miopatia autoimune sistêmica (MAS) definida pela presença de anticorpos Anti-aminoacil-tRNA sintetase (Anti-ARS). Clinicamente é caracterizada pela tríade clássica miosite, artrite e pneumopatia intersticial, associado ou não a hiperqueratose palmar (“mãos de mecânico”), fenômeno de Raynaud ou febre. O Anti-Jo-1 é o anticorpo mais comum e mais estudado em SAS e está relacionado a uma maior frequência de envolvimento articular e muscular, em comparação com pacientes Anti-Jo-1 negativos. Até o momento, não há um consenso na literatura sobre um padrão histológico muscular bem definido que caracterize a síndrome antissintetase. **Objetivo:** Analisar e caracterizar as biópsias musculares de pacientes com SAS e anticorpo Anti-Jo-1 positivo. **Métodos:** Este estudo de coorte retrospectivo incluiu pacientes adultos com diagnóstico de SAS e Anti-Jo-1 positivo admitidos para investigação da doença e obrigatoriamente com comprometimento muscular, no período de 2010 a 2021, cujos fragmentos de tecido muscular seriados foram analisados. **Resultados:** A média de idade dos pacientes ao diagnóstico da doença foi de $42,8 \pm 11,6$ anos, com predomínio do sexo feminino. Em relação às biópsias musculares, os infiltrados celulares estiveram presentes em 76,9% das amostras, localizados principalmente na região endomisial (70%), com predomínio de macrófagos (92,9%). A necrose de fibras musculares esteve presente em 92,3%, sendo difusa em 54,2%. A expressão de MHC-I foi observada em todas as amostras. Destacou-se maior presença de macrófagos CD68+ e a presença discreta de células CD4+ e CD8+, o que é consistente com uma maior predominância de necrose observada e da predominância de infiltrado macrofágico. Em geral, 38,5% dos pacientes apresentavam padrão de miopatia necrosante nas biópsias musculares, enquanto 34,6% e 26,9% apresentavam padrão de miopatia inflamatória e miopatia inespecífica, respectivamente. O padrão de miopatia necrosante não foi associado às características demográficas, clínicas ou laboratoriais dentro a população estudada. **Conclusões:** Nossos dados mostram que quase 40% dos pacientes com SAS bem definida e Anti-Jo-1 positivo com comprometimento muscular objetivo apresentam um

padrão de miopatia necrosante em suas biópsias musculares. Embora esse padrão seja mais classicamente relacionado a miopatias necrotizantes imunomediadas, em associação com manifestações clínicas e presença de autoanticorpos Anti-Jo-1, pode auxiliar no diagnóstico de SAS.

Descritores: Doenças autoimunes; Necrose; Doenças raras; Histologia; Miosite.

ABSTRACT

Silva LMB. *High prevalence of necrotizing myopathy pattern in muscle biopsies of patients with antisynthetase syndrome and positive Anti-Jo-1* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de Sao Paulo”; 2023.

Introduction: Antisynthetase syndrome (ASSD) is a rare systemic autoimmune myopathy that is defined by the presence of Anti-aminoacyl-tRNA synthetase (Anti-ARS) autoantibodies. Clinically, ASSD is characterized by myositis, arthritis, and interstitial pneumopathy, in addition to “mechanic’s hands,” Raynaud’s phenomenon, or fever. The Anti-Jo-1 is the most common and most studied antibody in ASSD and it is related to a higher frequency of joint and muscle involvement compared to Anti-Jo-1 negative patients. Until now, researchers have not provided a well-defined muscle histological pattern for antisynthetase syndrome (ASSD). **Objective:** We aimed to analyze and categorize the muscle biopsies of patients with Anti-Jo-1 ASSD. **Methods:** This retrospective cohort study included adult patients diagnosed with SAS and Anti-Jo-1 positive admitted for investigation of the disease and necessarily with muscle involvement, from 2010 to 2021, whose serial muscle tissue fragments were analyzed. **Results:** Patients’ mean age at disease diagnosis was 42.8 ± 11.6 years, and the female gender was most predominant. Concerning muscle biopsies, cell infiltrates were present in 76.9% of the samples, and they were mainly located at the endomysial area (70%), with a predominance of macrophages (92.9%). Muscle fiber necrosis was present in 92.3% and was diffused in 54.2%. Expression of MHC-I was seen in all samples. Samples were mostly marked by the presence of CD68+ and discreet/low CD4+ and CD8+ staining, which is consistent with a higher predominance of observed necrosis and macrophage cell infiltrates. In general, 38.5% of patients had a necrotizing myopathy pattern in muscle biopsies, whereas 34.6% and 26.9% had a general inflammatory myopathy pattern and nonspecific myopathy, respectively. This necrotizing myopathy pattern was not associated with the demographic, clinical, or laboratory data. **Conclusions:** Our data show that almost 40% of patients with well-defined ASSD and Anti-Jo-1 positive with objective muscle impairment have a necrotizing myopathy pattern in their muscle biopsies. Although this pattern is more classically related to immune-mediated necrotizing myopathies, in association with

clinical manifestations and the presence of Anti-Jo-1 autoantibodies, may subsidiary ASSD diagnosis.

Descriptors: Autoimmune diseases; Necrosis; Rare diseases; Histology; Myositis.

1. Introdução

1.1. Conceito de síndrome antissintetase

A síndrome antissintetase (SAS) é uma doença autoimune sistêmica caracterizada pela presença de miosite, artrite e pneumopatia intersticial, assim como febre, fenômeno de Raynaud e “mãos de mecânico” (CAVAGNA *et al.*, 2015; Da Silva LMB *et al.*, 2022; KATZAP *et al.*, 2011; SHINJO *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2013; BEHRENS PINTO *et al.*, 2020; BACCARO *et al.*, 2020). Laboratorialmente, a doença é caracterizada pela presença de autoanticorpos Anti-aminoacil-tRNA sintetases (Anti-ARS), como Anti-Jo-1, -PL-7, -PL-12, -OJ, -EJ, -KS, -Zo e -Ha (KATZAP *et al.*, 2011; CAVAGNA *et al.*, 2019).

O Anti-Jo-1 é o mais comum e mais estudado no autoanticorpo Anti-ARS em SAS. A incidência anual de Anti-Jo-1 na população é 1,25–2,5 por milhão de habitantes, com prevalência de 1,5/100000 ((IMBERT-MASSEAU *et al.*, 2003). Está relacionado a uma maior frequência de envolvimento articular e muscular, em comparação com pacientes Anti-Jo-1 negativos (ROJAS-SERRANO *et al.*, 2015; HERVIER *et al.*, 2012; SHINJO *et al.*, 2010). A maioria dos pacientes com SAS e Anti-Jo-1 positivo apresentam a forma clínica incompleta (com artrite, miosite ou envolvimento pulmonar, de uma forma isolada no início da doença), e evoluem para a forma clínica completa (com todas as manifestações previamente mencionadas) em meses ou até mesmo anos, tornando-se um desafio diagnóstico na prática clínica e frequentemente recebendo diagnósticos incorretos (por ex.: polimiosite, dermatomiosite, artrite reumatoide, pneumopatia intersticial não específica entre outras) nos primeiros meses / anos do início da doença (CAVAGANA *et al.*, 2015; HAMAGUCHI *et al.*, 2013, BACCARO *et al.*, 2020). Até mesmo as lesões de pele clássicas de dermatomiosite (heliótopo e sinal de

Gottron) foram observadas em pacientes com anticorpos Anti-ARS (Anti-Jo-1, Anti-EJ, Anti-PL-7, e Anti-PL-12), dificultando o diagnóstico de SAS (HAMAGUCHI *et al.*, 2013).

Os autoanticorpos Anti-ARS não Anti-Jo-1-(ex. -PL-7, -PL-12, -OJ, -EJ, -KS, -Zo e -Ha) apresentam maior heterogeneidade nas manifestações clínicas, especificamente no comprometimento muscular (BACCARO *et al.*, 2020). Por exemplo, Anti-PL-7 e Anti-PL-12 estão mais associados a pneumopatia intersticial e menor incidência de miosite (SOUZA *et al.*,2013), semelhante ao que se observa com o autoanticorpo Anti-KS (COJOCARU *et al.*,2016). A presença de Anti-EJ e Anti-OJ tem sido relacionada em associação com miosite (IMBERT-MASSEAU *et al.*, 2003), mas sua prevalência em SAS é baixa (IMBERT-MASSEAU *et al.*,2003).

A prevalência de miosite em SAS é estimada em 73% - 94%. Apesar disso, a manifestação muscular geralmente não está presente no início da doença e pode se manifestar ao longo dos anos (SHINJO *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2013; HERVIER *et al.*, 2013), dificultando o diagnóstico. A fraqueza muscular em pacientes com SAS tem um amplo espectro fenotípico, variando desde pacientes assintomáticos, com aumento da creatinofosfoquinase (CPK) ou mialgia, a pacientes acamados com fraqueza muscular grave (HERVIER *et al.*, 2013).

1.2. Critérios classificatórios da síndrome antissintetase

Devido à raridade, há ainda escassez de informações sobre SAS na literatura. Além disto, até o momento, não existe um padrão histopatológico universalmente aceito como característico de SAS (CAVAGNA *et al.*, 2017). CONNORS *et al.* (CONNORS *et al.*, 2010) propõem um critério inicial: um teste sorológico positivo para

autoanticorpo Anti-ARS associado a um ou mais das condições clínicas: miosite, artrite, doença pulmonar intersticial, febre persistente e sem uma causa aparente, fenômeno de Raynaud ou hiperqueratose cutânea palmar, descrito como “mãos de mecânico”. Adicionalmente CAVAGNA *et al.* (CAVAGNA *et al.*, 2019) incluem em um estudo retrospectivo 828 pacientes a presença de anticorpos Anti-ARS associado a pelo menos uma das manifestações clínicas: miosite, artrite ou doença pulmonar intersticial. BEHRENS *et al.* (BEHRENS PINTO *et al.*, 2020) em um estudo transversal com uma população de pacientes brasileiros, visando aumentar a especificidade dos critérios previamente utilizados, utilizam como critério de inclusão pacientes com um anticorpo Anti-ARS positivo associado a pelo menos duas condições clínicas: miosite, artrite ou pneumopatia intersticial. Esses critérios foram importantes, pois corroboram o estabelecimento da SAS como uma entidade distinta, com implicações no prognóstico e tratamento. Contudo, a ausência destes autoanticorpos Anti-ARS na presença de um quadro clínico sugestivo não exclui o diagnóstico de SAS, uma vez que os níveis destes autoanticorpos podem flutuar em função da atividade da doença, presença de grande variação quanto aos tipos de autoanticorpos testados (metodologia) e provavelmente da presença de outros autoanticorpos Anti-ARS ainda não identificados (WITT *et al.* 2016).

1.3. Síndrome antissintetase e critérios histológicos

Até agora, não existe uma definição bem estabelecida e critérios validados de um padrão histológico para SAS. Raros relatos de casos sugerem um padrão de necrose difusa em biópsias musculares em pacientes com autoanticorpos Anti-ARS positivos

(KASHIF *et al.*, 2017; PRAYSON *et al.*, 2017; MEHDIRATTA *et al.*, 2012; MEYER *et al.*, 2014). No entanto, esses estudos não detalham quais critérios foram usados para classificar esses pacientes como portadores de SAS sem manifestações clínicas, laboratoriais e/ou critérios de exclusão definidos. Um estudo retrospectivo (MESCAM-MANCINI *et al.*, 2015) analisa uma amostra representativa de biópsias musculares (n=53) entre pacientes com SAS Anti-Jo-1 positivo e sugere que esses pacientes apresentavam necrose perifascicular, deposição de complemento no sarcolema e inflamação localizada principalmente no perimísio (com extensão na área do endomísio) e/ou ao redor dos vasos. Da mesma forma, outro estudo (URUHA *et al.*, 2016) sugere que a necrose perifascicular é uma característica histopatológica presente não apenas em biópsias musculares entre pacientes com SAS com autoanticorpo Anti-Jo-1 positivo, mas também naqueles com outros autoanticorpos Anti-ARS, como Anti-OJ e Anti-PL-7 (URUHA *et al.*, 2016). Finalmente, Stenzel *et al.* (STENZEL *et al.*, 2015) observa em 21 pacientes a presença de miosite perimisial necrosante, além de inclusões distintas de filamentos de actina mionucleares e formações de bastonetes. No entanto, como limitação, esses estudos (MESCAM-MANCINI *et al.*, 2015; URUHA *et al.*, 2016) incluem pacientes com autoanticorpos Anti-ARS positivos, sem determinar se preenchem critérios prévios bem definidos e homogêneos para classificá-los inequivocamente como portadores de SAS.

Portanto um padrão histopatológico bem definido para categorizar um paciente com SAS é de suma importância, pois a presença isolada de um autoanticorpo Anti-ARS pode ser um epifenômeno (ANCUTA *et al.*, 2011) ou mesmo estar relacionado a uma MAS não SAS (ANDRADE *et al.*, 2021). Definir os critérios de inclusão e exclusão desses pacientes é de extrema importância, a fim de atenuar o viés de seleção,

aumentar a homogeneidade da amostra e enriquecer a literatura para novos estudos e futuras revisões da literatura. Portanto, visando adicionar dados à literatura, objetivamos avaliar e descrever os achados histopatológicos da biópsia muscular de pacientes com SAS Anti-Jo-1 bem definida admitidos para investigação da doença e obrigatoriamente com comprometimento muscular clínico e laboratorial.

2. Objetivos

Os objetivos do estudo constituem em avaliar biópsias musculares de pacientes com SAS. Serão avaliados os seguintes itens:

Primário:

- Caracterização histológica de tecidos musculares de pacientes com SAS e envolvimento muscular bem definido associado à Anti-Jo-1 positivo.

Secundário:

- Associação entre padrão histológico de tecidos musculares e padrão fenotípico, dados demográficos, laboratoriais, tratamento recebido e manifestações clínicas.

3. Pacientes e Método

3.1. Desenho do estudo

Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo, único centro, realizado de 2010 a 2021. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) - São Paulo (CAAE 39974020.4.0000.0068).

3.2. Pacientes

Todos os pacientes selecionados acompanham regularmente no Serviço de Reumatologia, Ambulatório de Miopatias Inflamatórias do Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo e são admitidos para investigação das manifestações clínicas de fraqueza muscular associada a níveis séricos anormais de enzimas musculares esqueléticas. Os pacientes que preenchem os critérios de SAS propostos por BEHRENS PINTO *et al.*, 2020 que incluiu a presença de autoanticorpos Anti-ARS (Anti-Jo-1) associados à presença de pelo menos dois dos seguintes parâmetros: envolvimento muscular (obrigatório), pulmonar ou articular são incluídos no estudo para análise das biópsias musculares realizadas eletivamente. Além disso, a presença de febre, "mãos de mecânico" ou fenômeno de Raynaud pode estar presente.

3.3. Critérios de inclusão

São incluídos pacientes com:

- Idade >18 anos no início de sintomas;
- Ter uma amostra histológica de biópsia muscular para reavaliação;
- Presença de autoanticorpo Anti-Jo-1.

3.4. Critérios de exclusão

São excluídos os pacientes com:

- Ausência de biópsia muscular para reavaliação;
- Presença de autoanticorpos *Anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase* (Anti-HMGCR) e *Anti-signal recognition particle* (Anti-SRP);
- Ter outras doenças autoimunes sistêmicas (síndrome de sobreposição);
- Pacientes com outras causas de miosite (infecciosa, medicamentosa e metabólica);
- Pacientes com distúrbio da tireoide (hiper ou hipotireoidismo) não compensado no momento da biópsia;
- Uso de estatinas ou fibratos (atual ou prévio);
- Diagnóstico de câncer (atual ou prévio).

3.5. Dados demográficos, antropométricos e clínicos ao diagnóstico

As informações são coletadas dos prontuários dos pacientes, cujos dados estão pré-parametrizados e padronizados:

- Sexo, idade ao início da doença, raça, tempo entre o início de sintomas e o diagnóstico da doença;

- Envolvimento muscular é definido pela elevação das enzimas musculares (aumento da CPK e/ou aldolase > 50%, em comparação com limite superior da normalidade) obrigatoriamente associado à fraqueza muscular clínica e objetiva e/ou alterações em exames de imagem (eletro-neuromiografia [ENMG] e/ou ressonância magnética [RM]) compatíveis com envolvimento muscular. A força muscular é verificada e definida por um reumatologista através dos testes *Manual Muscle Testing* - MMT (RIDER *et al.*, 2003; HARRIS-LOVE *et al.*, 2009) ou *Medical Research Council* - MRC (VANHOUTTE *et al.*, 2012). Para ser considerado compatível com padrão miopático, a ENMG necessita apresentar pequenos potenciais de descarga espontânea – fibrilação em repouso e potencial polifásico (SCHLECHT *et al.*, 2020); quanto à RM, é considerada sugestiva a presença de edema muscular ou lipossustituição muscular (SHINJO *et al.*, 2015). A biópsia muscular é realizada apenas em paciente com acometimento muscular definido.
- Envolvimento articular é definido pela presença de artrite (dor articular de padrão inflamatório, edema e/ou sensibilidade ao toque);
- Envolvimento pulmonar é definido pela presença de dispneia, intolerância a exercícios ou tosse, associado à pelo menos uma alteração objetiva em exames complementares: tomografia computadorizada com sinais de alveolite/fibrose, pneumopatia intersticial incipiente, opacidades em vidro fosco com ou sem bronquiectasias ou fibrose pulmonar e áreas em faveolamento em alta resolução e/ou pletismografia com análise da capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) e capacidade de difusão de monóxido de carbono (DLCO) (NICI *et al.*, 2006; CAVAGNA *et al.*, 2019; BACCARO *et al.*, 2020);

- Presença de sintomas constitucionais, como febre (temperatura axilar > 37,8°C medida objetivamente) e/ou perda involuntária de peso > 10% do peso nos últimos 6 meses de inclusão de pacientes no estudo;
- Sintomas cutâneos definidos por hiperqueratose palmoplantar (“mãos de mecânico”) e sintomas vasculares como fenômeno de Raynaud;
- Terapia medicamentosa: uso de medicamentos (remotos e/ou atuais), incluindo glicocorticoides, imunossupressores, imunobiológicos imunomoduladores (imunoglobulina humana intravenosa) e estatinas.

3.6. Avaliação laboratorial

Os seguintes parâmetros são analisados em todos os pacientes: creatinofosfoquinase (CPK) (referência: 32 - 294 U/L), aldolase (referência < 7,6 U/L), fator antinuclear (FAN), Anti-Ro-52; Anti-SRP, anticorpos Anti-ARS (-Jo-1, OJ, EJ, PL-7, PL-12), Anti-Ku, Anti-PM/Scl, Anti-Mi-2 (Myositis Profile Euroline Blot test kit, Euroimmun, Lübeck, Alemanha) de acordo com o protocolo do fabricante. O anticorpo Anti-HMGCR foi realizado pelo método *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) test (MyBioSource, CA, EUA). Os resultados são considerados positivos se as bandas apresentarem reações moderadas ou fortes.

3.7. Avaliação das biópsias musculares

As biópsias musculares são realizadas para fins investigativos, em topografia do músculo bíceps braquial ou do músculo vasto lateral. O material é armazenado em

nitrogênio líquido a - 170°C. As biópsias são guiadas por RM (área de maior edema muscular e áreas de menor liposs substituição ou áreas hipo/atróficas) e realizadas em músculos considerados clinicamente comprometidos (membros paréticos [MRC 4-2], mas não plégicos [MRC 1]). Se a ENMG foi realizada há menos de um mês da realização da biópsia muscular, o membro contralateral ao local da ENMG foi eleito para a biópsia.

A rotina diagnóstica inclui cortes seriados de 5 µm de espessura para realização de reações histológicas, histoquímicas e imuno-histoquímicas. Para o presente estudo são revisadas lâminas de biópsias musculares já processadas e coradas pelo método de hematoxilina e eosina (H&E), fosfatase ácida processadas segundo a técnica padronizada por Dubowitz (DUBOWITZ *et al.*, 2007) e também imuno-histoquímica. As expressões de CD4+ e CD8+ são identificadas por imuno-histoquímica usando a técnica EnVision-AP (Dako En Vision System, fosfatase alcalina, Dakopatts), as células CD68+ foram identificadas por imuno-histoquímica, usando o sistema LSAB+ (Dako, A/S Dinamarca), enquanto o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I foi identificado usando a técnica de imunoperoxidase StreptABCComplex/HRP-Duet reação imuno-histoquímica (StreptABCComplex/HRP Duet, camundongo/coelho; Dakopatts). Os parâmetros analisados na histologia foram:

- a) Todas as amostras são avaliadas e analisadas quanto ao grau de processo inflamatório (endomísio, perimísio e/ou perivascular); presença e distribuição de necrose das fibras musculares;
- b) Realizada análise qualitativa da variação do tamanho das fibras musculares, atrofia perifascicular (atrofia de uma a duas camadas de fibras na periferia do fascículo) e infiltrado inflamatório. O infiltrado inflamatório foi classificado pelo tipo celular

- predominante: macrófago ou linfocítico; a distribuição e localização do infiltrado foi classificada em perivascular, perimísio e endomísio. O termo "perimisial" descreve alterações no tecido conjuntivo entre os fascículos (WEDDERBURN *et al.*, 2007);
- c) A necrose é definida por coloração pálida e/ou hialinizada, visualizada na coloração H&E. Fibras em regeneração são identificadas pelo aumento da basofilia com coloração H&E, bem como grandes núcleos vesiculares (PONGRATZ *et al.*, 2004);
- d) Adicionalmente, uma análise semiquantitativa foi realizada para avaliar e classificar a intensidade da inflamação e necrose nas fibras. Tal avaliação foi determinada por meio de uma escala: nenhuma; leve: (1-25%), moderada (26-50%), intensa (56-100%) de células com positividade nas estruturas analisadas.
- e) As expressões e reações de MHC I com anticorpos monoclonais para CD4, CD8 e CD68 são analisadas de forma semi-quantitativa como: (-): ausência de células positivas; (-): ausência de células com positividade; (+) 0 a 25%; (++) 26 a 50%; (+++): > 50% de células com positividade nas estruturas analisadas;
- f) Para avaliação vascular, toda a amostra é avaliada qualitativamente quanto à presença de infiltrado perivascular (perimísio) e ectasia vascular (endomísio);
- g) Todas as lâminas são analisadas por dois investigadores cegos e independentes (LMBS e IBPB), que passaram por treinamento extensivo em histologia muscular de acordo com o protocolo da Instituição. Caso haja discordância entre os avaliadores, ao final da avaliação, um terceiro avaliador realizou nova avaliação (SKS).

Após a avaliação inicial, cada amostra recebe uma classificação do padrão histológico predominante:

- a) Padrão de miopatia inflamatória - Este padrão de biópsia sugere uma miopatia inflamatória com base nos critérios histológicos sugeridos (BOHAN *et al.*, 1975;

LUNDBERG *et al.*, 2017): degeneração e alterações regenerativas, necrose e fagocitose; um infiltrado inflamatório intersticial ou perivascular mononuclear; e imuno-histoquímica com predomínio de CD4+ ou CD8+ (PONGRATZ *et al.*, 2004; MAMMEN *et al.*, 2014);

- b) Padrão de miopatia necrosante - Inclui necrose abundante de miofibras, degeneração e regeneração com inflamação mínima, se houver, na biópsia muscular (com predominância de macrófagos) e imuno-histoquímica (com predominância de CD68+) (MAMMEN *et al.*, 2014);
- c) Miopatia inespecífica - Pode apresentar variação no tamanho das miofibras, alguma necrose isolada e miofibras em regeneração, infiltração inflamatória nula ou mínima e imuno-histoquímica inespecífica.

3.8. Análise estatística

O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para testar a distribuição dos dados. Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão ou mediana (interquartil 25% - 75%) para variáveis contínuas, enquanto frequência (%) para variáveis categóricas. Os resultados foram comparados pelos testes *t*-Student ou Mann-Whitney para variáveis contínuas para determinar diferenças entre padrões histológicos com vários parâmetros analisados no presente estudo. As diferenças nas variáveis categóricas foram calculadas pelo teste exato de Fisher e/ou χ^2 de Pearson. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software SPSS, versão 22.0 (Chicago, IL, EUA). Os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

4. Resultados

4.1. Características da amostra

Um total de 55 pacientes com SAS são avaliados do ponto de vista clínico e laboratorial. Nove pacientes não preencheram os critérios de inclusão porque eram negativos para os autoanticorpos Anti-Jo-1 (três pacientes tinham anticorpos Anti-PL7, três tinham Anti-PL12 e três tinham Anti-EJ). Portanto, avaliamos que um total de 46 pacientes com SAS Anti-Jo-1 positivo eram elegíveis para o presente estudo (Figura 1). No entanto, 20 pacientes foram excluídos: 14 foram admitidos em nossa instituição advindos de outros serviços com diagnóstico anterior de SAS, com tratamento imunossupressor prévio e poucas manifestações clínicas (e musculares); 3 tinham contraindicação à realização da biópsia (anticoagulação ou instabilidade hemodinâmica), 1 se recusou ser submetido à biópsia muscular e 2 não tinham biópsias musculares disponíveis para reavaliação. Portanto, avaliamos um total de 26 pacientes com biópsias musculares. Além disso, nenhum dos pacientes apresentava autoanticorpos Anti-HMGCR, Anti-SRP ou outras doenças autoimunes sistêmicas (síndrome de sobreposição), outras causas de miosite (infeciosa, medicamentosa, medicamentosa e metabólica), distúrbio da tireoide (hiper ou hipotireoidismo) descompensados no momento da biópsia, uso de estatinas ou fibratos (atual ou anterior), ou câncer (atual ou anterior).

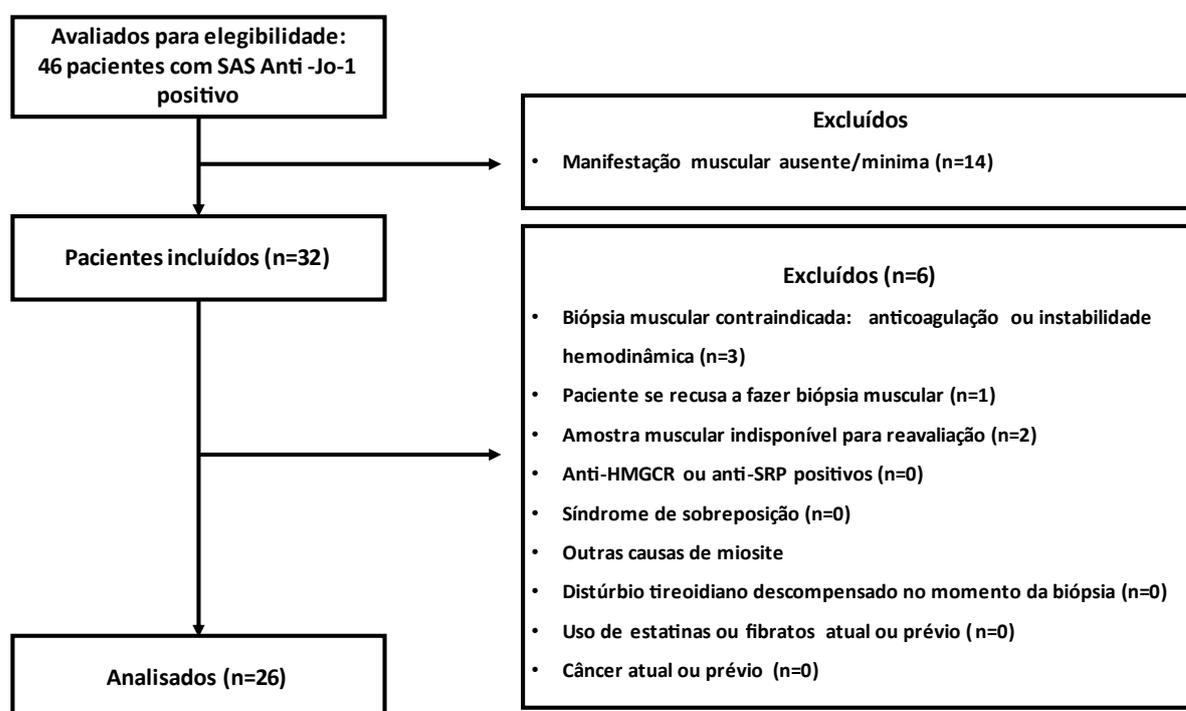
4.2. Desfechos primários

4.2.1. Características clínicas gerais e dados laboratoriais

A idade média dos pacientes ao diagnóstico da doença é de $42,8 \pm 11,6$ anos, sendo o sexo feminino e a etnia branca predominantes (Tabela 1). A duração entre o início dos sintomas e o diagnóstico é de 5 (3 - 12) meses. Todos os 26 pacientes apresentaram acometimento muscular como quadro clínico inicial, sendo que a maioria estava associada a força muscular grau III ou IV em ambos os membros superiores e inferiores. O envolvimento pulmonar e articular são observados em 96,2% e 92,3% dos pacientes respectivamente, enquanto “mãos de mecânico”, fenômeno de Raynaud e febre são observados em 88,5%, 76,9% e 50,5% dos casos respectivamente.

Laboratorialmente a presença de FAN foi observada em 80,8% dos casos, tendo como padrão predominante citoplasmático pontilhado fino, e as concentrações séricas máximas de CPK e aldolase foram, respectivamente, 4326 U/L e 40,0 U/L.

Figura 1 - Fluxograma da seleção dos pacientes



4.2.2. Parâmetros histológicos musculares

A variabilidade do diâmetro das fibras musculares está presente em todas as amostras, e infiltrado inflamatório em 76,9% das amostras (Tabela 2). Localizam-se principalmente na área endomisial (70%) e os macrófagos foram as células predominantes. Infiltrados perimisial e infiltrado difusos (considerado difuso quanto apresenta acometimento das áreas perimisial e endomisial concomitantemente) também são observados, mas são menos prevalentes (5% e 25%, respectivamente). É importante salientar que, embora infiltrados perivasculares e atrofia perifascicular sejam observadas em 15,4% dos pacientes, essas características não foram evidenciadas concomitantemente no mesmo paciente. Isso é relevante pois essas duas características estão relacionadas à dermatomiosite, principalmente quando associadas na mesma amostra (DALAKAS *et al.*,2003). Um total de 92,3% das amostras apresenta necrose muscular de distribuição predominantemente difusa (54,2%). A expressão do MHC I é observada em todas as amostras (Tabela 3), em sua maioria classificada como expressão intensa. A amostra é altamente marcada pela presença de CD68+ e apresentação discreta/baixa de CD4+ e CD8+ (em sua maioria amostras ausentes ou leves), o que é consistente com a maior predominância de necrose e infiltrados de macrófagos visualizados nas amostras.

4.2.3. Parâmetros miopatológicos

Quanto aos padrões miopáticos, 38,5% dos pacientes apresentam padrão de miopatia necrosante nas biópsias musculares, 34,6% biópsias musculares sugestivas de miopatia inflamatória e 26,9% de miopatia inespecífica (Tabela 3).

Seis pacientes são submetidos às biópsias realizadas sem tratamento imunossupressor prévio (Tabela 4). Embora 20% dos pacientes com padrões necrosantes e 25% com outros padrões (inflamatórios e inespecíficos) não tivessem sido tratados no momento da biópsia, esse fato não influencia as características histológicas, pois são semelhantes em ambos os grupos.

A Figura 2 ilustra cada um desses padrões miopatológicos.

Tabela 1. Características gerais dos pacientes ao diagnóstico da doença

| Parâmetros | N=26 |
|---|-----------------|
| Idade no diagnóstico da doença (em anos) | 42,8±11,6 |
| Sexo feminino | 18 (69,2) |
| Cor branca | 47 (73,4) |
| Duração entre inícios dos sintomas e diagnóstico (em meses) | 5,0 (3,0-12,0) |
| Características clínicas iniciais | |
| Envolvimento muscular | 26 (100) |
| Força muscular membros superiores | |
| Grau V | 5 (19,2) |
| Grau IV | 11 (42,3) |
| Grau III | 10 (38,5) |
| Grau II | 0 |
| Grau I | 0 |
| Força muscular membros inferiores | |
| Grau V | 1 (3,9) |
| Grau IV | 14 (53,8) |
| Grau III | 11 (42,3) |
| Grau II | 0 |
| Grau I | 0 |
| Envolvimento articular | 24 (92,3) |
| Envolvimento pulmonar | 25 (96,2) |
| Tomografia computadorizada dos pulmões | |
| Opacidade em “vidro-fosco” | 16 (61,5) |
| Doença intersticial pulmonar | 24 (92,3) |
| Fibrose pulmonar | 5 (19,2) |
| “Mãos de mecânico” | 21 (88,5) |
| Fenômeno de Raynaud | 20 (76,9) |
| Febre | 13 (50,0) |
| Parâmetros laboratoriais | |
| Fator antinuclear (FAN) | 21 (80,8) |
| Anticorpo Anti-Jo-1 | 26 (100) |
| Anticorpo Anti-Ro-52 | 10 (38,5) |
| Nível sérico máximo de creatinofosfoquinase (U/L) | 4326 (998-9831) |
| Nível sérico máximo de aldolase (U/L) | 40 (22,9-93,0) |

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

Tabela 2. Análise histológica de biópsias musculares

| Parâmetros histológicos | N=26 |
|---|--------------|
| Alteração do diâmetro da fibra muscular | 26/26 (100) |
| Infiltrado inflamatório | 20/26 (76,9) |
| Infiltrado endomisial isolado | 14/20 (70,0) |
| Linfocítico | 8/14 (57,1) |
| Macrofágico | 13/14 (92,9) |
| Infiltrado perimisial isolado | 1/20 (5,0) |
| Linfocítico | 1/1 (100) |
| Macrofágico | 1/1 (100) |
| Infiltrado difuso | 5/20 (25,0) |
| Linfocítico | 1/5 (20,0) |
| Macrofágico | 5/5 (100) |
| Infiltrado perivascular | 4/26 (15,4) |
| Linfocítico | 3 (75,0) |
| Macrofágico | 1(25,0) |
| Atrofia perifascicular | 4/26 (15,4) |
| Necrose de fibras musculares | 24/26 (92,3) |
| Área perifascicular | 1/24 (4,2) |
| Área endomisial | 10/24 (41,7) |
| Difusa | 13/24 (54,2) |
| Padrão histológico | |
| Miopatia inflamatória | 9 (34,6) |
| Miopatia necrosante | 10 (38,5) |
| Miopatia inespecífica | 7 (26,9) |

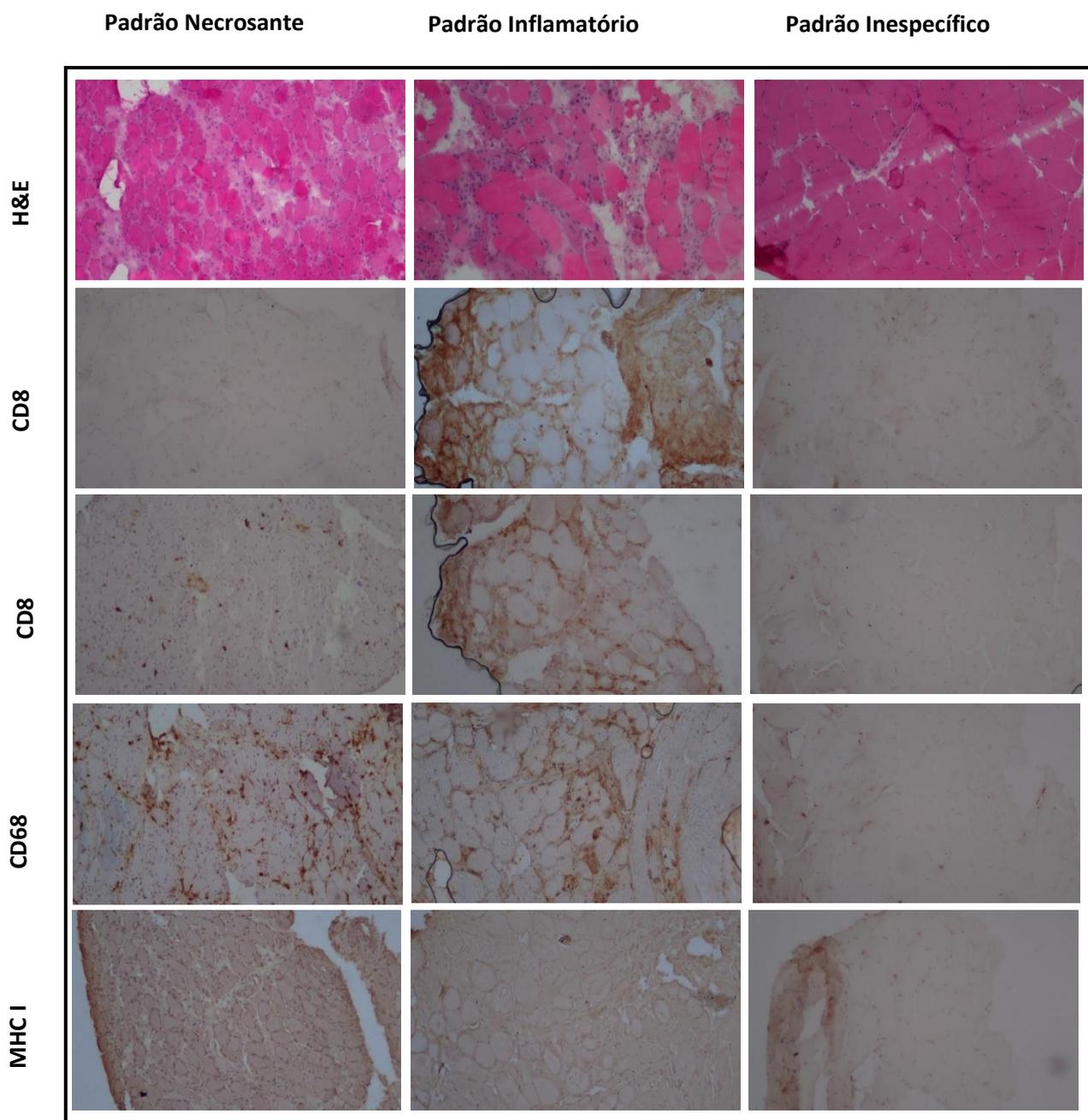
Resultados expressos em frequência (%).

Tabela 3. Análise imuno-histoquímica

| Parâmetros | n (%) |
|-------------------|--------------|
| CD4+ | n=18 |
| Nenhuma | 5 (27,8) |
| Leve | 11 (61,1) |
| Moderada | 2 (11,1) |
| Intensa | 0 |
| CD8+ | n=19 |
| Nenhuma | 13 (68,4) |
| Leve | 5 (26,3) |
| Moderada | 0 |
| Intensa | 1 (5,3) |
| CD68+ | n=19 |
| Nenhuma | 0 |
| Leve | 8 (42,1) |
| Moderada | 7 (36,8) |
| Intensa | 4 (21,1) |
| MHC I | n=19 |
| Nenhuma | 0 |
| Leve | 2 (10,5) |
| Moderada | 5 (26,3) |
| Intensa | 12 (63,2) |

Resultados expressos em frequência (%).

Figura 2. Padrões miopatológicos



A Figura mostra o padrão de miopatia necrosante (necrose abundante de miofibras, inflamação mínima com predomínio de macrófagos, imuno-histoquímica com predominância de CD68+), miopatia inflamatória (degeneração e alterações regenerativas, necrose e fagocitose; infiltrado inflamatório mononuclear; e imuno-histoquímica com predomínio de CD4+ ou CD8+) e padrões de miopatia inespecífica (variação no tamanho das miofibras, alguma necrose isolada e miofibras em regeneração, infiltração inflamatória nula ou mínima e imuno-histoquímica inespecífica). 10x aumento.

4.3. Desfechos secundários

4.3.1. Relação entre o padrão histológico e o padrão fenotípico

Os dados demográficos, tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico, dados clínicos e laboratoriais (incluindo grau de força muscular, níveis séricos de CPK e aldolase) e tratamento (Tabela 4) são comparáveis entre os pacientes, cujas biópsias musculares são compatíveis com padrão miopático necrosante em comparação aos outros padrões. Da mesma forma, as características histológicas são semelhantes em ambos os grupos, exceto pela ausência de infiltrado linfomononuclear difuso (inclusive na área do perimísio) e infiltração de macrófagos na área perivascular em pacientes com padrão de miopatia necrosante.

Embora alguns pacientes estivessem em uso de glicocorticoide e/ou tratamento imunossupressor no momento da biópsia muscular, isso não parece influenciar as características miopatológicas, pois não há diferença entre os grupos (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação entre pacientes com biópsias musculares com padrão de miopatia necrosante e outros padrões no momento da biópsia muscular: características demográficas, clínicas, tratamento e padrão histológico.

| | Padrão MN (n=10) | Outros padrões (n=16) | P value |
|---|-----------------------------|----------------------------------|--------------------|
| Idade | 39,4±11,3 | 44,9±11,5 | 0,243 |
| Sexo feminino | 7 (70,0) | 11 (68,8) | >0,999 |
| Cor branca | 6 (60,0) | 13 (81,3) | 0,369 |
| Duração entre o início dos sintomas e o diagnóstico | 4,0 (3,0-12,0) | 5,0 (3,0-5,0) | 0,737 |
| Sintomas constitucionais | 8 (80,0) | 12 (75,0) | |
| Força muscular | | | |
| Membros superiores | | | |
| Grau V | 1 (10,0) | 1 (6,3) | 0,150 |
| Grau IV | 3 (30,0) | 11 (68,8) | |
| Grau III | 6 (60,0) | 4 (25,0) | |
| Membros inferiores | | | |
| Grau V | 0 | 1 (6,3) | 0,300 |
| Grau IV | 4 (40,0) | 10 (62,5) | |
| Grau III | 6 (60,0) | 5 (31,3) | |
| Envolvimento sistêmico | 5 (50,0) | 8 (50,0) | >0,999 |
| Articular | 10 (100) | 14 (87,5) | 0,508 |
| Pulmonar | 9 (90,0) | 16 (68,8) | 0,385 |
| Pneumopatia intersticial | 9 (90,0) | 15 (93,8) | >0,999 |
| Opacidades em "vidro-fosco" | 6 (60,0) | 10 (62,5) | >0,999 |
| Fibrose pulmonar | 3 (30,0) | 2 (12,5) | 0,340 |
| Fenômeno de Raynaud | 8 (80,0) | 12 (75,0) | >0,999 |
| "Mãos de mecânico" | 8 (80,0) | 15 (93,8) | 0,538 |
| CPK | 4101 (1238-7743) | 4220 (790-11492) | 0,623 |
| Aldolase | 37,5 (17,4-43,0) | 39,6 (21,0-141,0) | >0,999 |
| Tratamento | | | |
| Nenhum | 2 (20,0) | 4 (25,0) | 0,664 |
| Prednisona | | | |
| Em uso atual | 8 (80,0) | 12 (75,0) | >0,999 |
| Dose cumulativa (mg) | 1010 (205-3165) | 2400 (100-6500) | 0,551 |
| IS/IM/ | 4 (40,0) | 4 (25,0) | 0,664 |
| Infiltrado linfomononuclear | | | |
| Difuso | 0 | 12 (75,0) | - |
| Área endomisial | 1 (10,0) | 8 (50,0) | 0,087 |
| Área perimisial | 0 | 1 (6,3) | >0,999 |
| Área Perivascular | 1 (10,0) | 2 (12,5) | >0,999 |
| Infiltrado macrofágico | | | |
| Difuso | 9 (90,0) | 12 (75,0) | 0,617 |
| Área endomisial | 9 (90,0) | 9 (56,3) | 0,099 |
| Área perimisial | 4 (40,0) | 2 (12,5) | 0,163 |
| Área Perivascular | 0 | 10 (62,3) | - |
| Atrofia perifascicular | 1 (10,0) | 3 (18,8) | >0,999 |
| Necrose perifascicular | 6 (60,0) | 8 (50,0) | 0,701 |
| Necrose endomisial | 10 (100) | 13 (81,3) | 0,262 |

CPK: creatinofosfoquinase; IM: imunomodulador; IS: imunossupressor; MN: miopatia necrosante. IS/IM; azatioprina, ciclofosfamida, ciclosporina; imunoglobulina endovenosa; micofenolato de mofetila, leflunomida

5. Discussão

No presente estudo analisamos uma amostra representativa de biópsias musculares entre pacientes com SAS bem estabelecida. Nossos dados demonstraram maior prevalência do padrão de miopatia necrosante com necrose difusa das fibras musculares, altamente marcada pela presença de CD68+ e discreta/baixa marcação para CD4+ e CD8+ nas biópsias musculares. Além disso, não encontramos associação entre o padrão miopatológico necrosante e características demográficas, manifestações clínicas ou dados laboratoriais (incluindo comprometimento muscular) ao diagnóstico da doença, independentemente do uso de glicocorticoides ou imunossupressores no momento da biópsia.

Ao contrário dos escassos estudos que analisam biópsias musculares, cujos pacientes apresentam autoanticorpos Anti-ARS positivos, o presente estudo incluiu inicialmente pacientes com SAS bem definidos e, secundariamente, avaliamos suas biópsias musculares, com base em critérios rígidos de inclusão e exclusão. Mitigamos o viés de seleção e aumentamos a especificidade da amostra, minimizando a chance de esses pacientes terem outras comorbidades que poderiam mimetizar as manifestações clínicas e laboratoriais de SAS. Por se tratar de uma doença rara, e dada a escassez de dados na literatura, é de se esperar que estudos na área tenham um número pequeno de participantes sem, ao contrário, perder a representatividade da amostra.

A prevalência de pacientes com SAS e Anti-Jo-1 positivo é maior em relação à outros Anti-ARS (SHINJO *et al.*, 2010), motivo pelo qual é o autoanticorpo mais estudado na SAS (SHINJO *et al.*, 2010, CONNORS *et al.*, 2010) e está associado a uma maior frequência de envolvimento muscular quando comparado aos não-Anti-Jo-1 paciente (SHINJO *et al.*, 2010; ROJAS-SERRAJO *et al.*, 2015; HERVIER *et al.*, 2012;

LEGA *et al.*, 2014). Assim, para manter um grupo mais homogêneo, apenas pacientes com SAS Anti-Jo-1 bem definida admitidos para investigação da doença e obrigatoriamente com comprometimento muscular (clínica e laboratorial) foram incluídos; a maioria dos pacientes apresentava força muscular graus III e IV no momento da biópsia muscular.

A média de idade dos pacientes ao diagnóstico de SAS foi de 42,8 anos, sendo o sexo feminino e a etnia branca predominantes, semelhante ao relatado em estudos anteriores (CAVAGNA *et al.*, 2013; BACCARO *et al.*, 2020; CAVAGNA *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2020). Como o curso de SAS Anti-Jo-1 positivo é muito variável (CAVAGNA *et al.*, 2015), o diagnóstico de SAS costuma ser atrasado por ser frequentemente diagnosticado erroneamente como outra doença (semelhante a polimiosite, dermatomiosite, artrite reumatoide, pneumopatia intersticial inespecífica e outras) em geral nos primeiros meses/anos do início da doença (BACCARO *et al.*, 2020; CAVAGNA *et al.*, 2015; HAMAGUCHI *et al.*, 2013). Visto se tratar de um centro de referência terciário, é de se esperar que os pacientes apresentem uma sintomatologia exuberante (grande prevalência das três manifestações clínicas descritas como “tríade clássica” no momento do diagnóstico: miosite, artrite e pneumopatia intersticial) no momento do diagnóstico. Apesar disso, em nossa amostra, o tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico da doença em 5 (3,0-12,0) meses foi semelhante ao tempo médio descrito na literatura (CAVAGNA *et al.*, 2013; BACCARO *et al.*, 2020, CAVAGNA *et al.*, 2015). Isso é importante porque, mesmo com um critério de inclusão mais específico (pelo menos duas manifestações da tríade clássica), não encontramos retardo no diagnóstico da doença e, conseqüentemente, atraso na realização das biópsias musculares.

Com relação aos achados miopatológicos, a variabilidade do diâmetro da fibra muscular e a regulação positiva de moléculas do MHC classe I na superfície das fibras musculares esteve presentes em todas as amostras. Essas anormalidades são frequentemente observadas em amostras musculares de miopatias inflamatórias, embora inespecíficas (VATTEMI *et al.*, 2014). A maioria dos pacientes apresenta infiltrados inflamatórios macrofágicos, que se localiza predominantemente na área endomisial, e apresenta presença significativa de necrose de fibras musculares, propondo um padrão de miopatia necrosante semelhante à miopatia necrosante imunomediada (MNIM). Apesar de esse padrão ser classicamente descrito em pacientes com MNIM (STENZEL *et al.*, 2015), alguns estudos forneceram evidências indiretas de que o SAS pode ter um padrão necrosante na biópsia muscular (KASHIF *et al.*, 2017; PRAYSON *et al.*, 2017; MEHDIRATTA *et al.*, 2012; MEYER *et al.*, 2014; MAMMEN *et al.*, 2014).

Nosso trabalho demonstra uma mínima prevalência de necrose perifascicular (4,2% dos pacientes), o que difere do trabalho prévio de Mescam-mancini *et al.* (2015) no qual a prevalência foi de 75,8% dos pacientes. Essa diferença de padrão histológico pode ser atribuída a uma possível diferença no perfil de pacientes incluídos nos diferentes estudos. Mescam-Mancini *et al.*, por exemplo, incluíram pacientes Anti-Jo-1, sem um critério de inclusão bem definido para SAS, e nem todos os pacientes apresentavam acometimento muscular. Em contraste, no presente estudo incluímos apenas pacientes com duas ou mais manifestações clínicas da tríade clássica da doença sendo o acometimento muscular obrigatório para inclusão. Além disso, é sabido que a SAS pode ter uma apresentação clínica polimórfica e pode ser influenciada pela distribuição geográfica (SHI *et al.*, 2017). Tal informação leva ao questionamento se

as diferenças histológicas encontradas entre os diferentes estudos, com amostras distintas (brasileira e europeus respectivamente) poderiam influenciar em tais achados. Assim sendo, futuros estudos multicêntricos e com amostras distintas deverão trazer informações adicionais e ampliar o conhecimento sobre a doença.

Classicamente, sinais e sintomas podem ajudar a diferenciar as duas doenças (SAS e MNIM) como manifestação clínica (comprometimento pulmonar, articular e cutâneo na SAS; miosite isolada para MNIM (CAVAGNA *et al.*, 2013; STENZEL *et al.*, 2015; MAMMEN *et al.*, 2014) ou manifestação laboratorial (presença de autoanticorpo Anti-ARS para SAS e presença de autoanticorpo Anti-SRP ou Anti-HMGCR para MNIM) (CAVAGNA *et al.*, 2013, STENZEL *et al.*, 2015, MAMMEN *et al.*, 2011). Embora ambas as doenças (MNIM e SAS) possam apresentar padrão predominantemente necrosante na biópsia muscular, a presença de inflamação parece ser mais proeminente em SAS do que em MNIM (MESCAM-MANCINI *et al.*, 2015). A distribuição de fibras necróticas pode ajudar a diferenciar entre ambas as doenças; no presente estudo foi localizada principalmente difusa (54,2%) porém expressiva porcentagem de pacientes apresentava necrose na apenas em região endomisial (41,7%), enquanto na MNIM a necrose tende a ser difusa (MAMMEN *et al.*, 2014).

Não encontramos associação entre idade, sexo, etnia, manifestações clínicas ou dados laboratoriais quando comparamos o padrão histológico de miopatia necrosante com outros padrões histológicos. Estudos prévios já descreveram a não associação entre características clínicas e parâmetros histopatológicos em biópsias musculares (SHINJO *et al.*, 2015; DIAZ *et al.*, 2017; LUNDBERG *et al.*, 2000). Tal fato pode ser justificado devido ao fato de que infiltrados inflamatórios histológicos podem ocorrer em focos, justificando uma dissociação entre parâmetros clínicos e características

histológicas. Interessantemente no presente estudo o uso prévio de glicocorticoides e/ou imunossupressores não influencia o padrão histológico, pois a dose cumulativa foi semelhante nos grupos.

A principal limitação deste estudo é seu desenho retrospectivo (MANN *et al.*, 2003); no entanto, devido à raridade do SAS, acreditamos que isso acrescentará informações relevantes aos dados ainda escassos sobre a histologia nessa doença, pois a biópsia muscular continua sendo um dos pilares para o diagnóstico correto dos subtipos das miopatias inflamatórias idiopáticas (ZANFRAMUNDO *et al.*, 2021). Tais informações são de suma importância para o desenvolvimento de critérios diagnósticos validados para a doença no futuro. Incluímos rigorosamente pacientes com pelo menos dois sintomas conhecidos como clássicos da doença, reduzindo o viés de seleção e aumentando a especificidade da amostra. Reconhecemos plenamente as limitações decorrentes do fato de que nem todos os pacientes haviam se absterido de terapia no momento da biópsia muscular; levantando a possibilidade de que pode ter influenciado a apresentação histológica. Apesar das preocupações de que a introdução precoce de glicocorticoide possa interferir no processo inflamatório nos tecidos musculares, o uso prévio de glicocorticoide não parece influenciar a presença ou o grau de infiltrados inflamatórios em biópsias musculares em pacientes com atividade clínica e laboratorial da doença (SHINJO *et al.*, 2015; DIAZ *et al.*, 2017; PINHATA *et al.*, 2015).

6. Conclusões

Os dados do presente estudo demonstram um representativo padrão semelhante à miopatia necrosante em pacientes com SAS e Anti-Jo-1 positivo bem definido. Não houve associação entre dados demográficos, manifestações clínicas, tratamento ou dados laboratoriais quando comparamos o padrão histológico de miopatia necrosante com outros padrões histológicos. A característica histológica em questão, embora mais classicamente relacionada ao MNIM, se correlacionada com um quadro clínico sugestivo, pode levar ao diagnóstico de SAS.

A análise histológica parece ser de suma importância para o diagnóstico correto e precoce das diversas MAS, principalmente na SAS, onde as manifestações clínicas podem preceder outros sintomas em anos, e os pacientes podem apresentar apenas manifestação muscular no início da doença, dificultando o diagnóstico. Portanto, esclarecer o padrão ainda nebuloso da histologia muscular da SAS busca dar substrato para futuros trabalhos na área, visando o desenvolvimento de um critério classificatório bem definido para a doença. O desenvolvimento de tal critério poderá facilitar o diagnóstico não apenas por especialistas na área, mas também outros profissionais de saúde que envolvem o diagnóstico e tratamento de pacientes acometidos pela doença.

Desenvolver, ampliar e lapidar as ainda escassas informações no que tangem à SAS busca impactar o desfecho clínico e prognóstico dos doentes, possibilitando um diagnóstico assertivo e precoce, visando melhorar a qualidade de vida e diminuindo morbimortalidade dos pacientes acometidos pela doença.

7. Referências

- ANCUTA CM, ANCUTA E, CHIRIEAC RM. Aminoacyl-tRNA synthetases in idiopathic inflammatory myopathies: an update on immunopathogenic significance, clinical and therapeutic implications. *Idiopathic inflammatory myopathies - recent developments*. Rijeka 2011,77-90.
- ANDRADE VPD, SOUZA FHCD, PINTO GLB, et al. The relevance of Anti-Jo-1 autoantibodies in patients with definite dermatomyositis. *Adv Rheumatol* 2021;61:12.
- BACCARO ACCD, BEHRENS PINTO GL, CARBONI RCS, et al. The clinical manifestations at the onset of antisynthetase syndrome: A chameleon with multiple faces. *Reumatismo* 2020;72:86-92.
- BEHRENS PINTO GL, CARBONI, RCS, DE SOUZA FHC, et al. A prospective cross-sectional study of serum IL-17A in antisynthetase syndrome. *Clin Rheumatol* 2020;39:2763-71.
- BOHAN A, PETER JB. Polymyositis and dermatomyositis. *N Engl J Med* 1975;292:344-7.
- CAVAGNA L, NUÑO L, SCIRE CA, et al. Clinical spectrum time course in Anti-Jo-1 positive antisynthetase syndrome: results from an international retrospective multicenter study. *Med* 2015;94:32:e1144.
- CAVAGNA L, CASTAÑEDA S, SCIRÉ C, GONZALEZ-GAY MA. Antisynthetase syndrome or what else? Different perspectives indicate the need for new classification criteria. *Ann Rheum Dis* 2017; 77: e50.
- CAVAGNA L, TRALLERO-ARAGUÁS E, MELONI F, et al. Influence of antisynthetase antibodies specificities on antisynthetase syndrome clinical spectrum time course. *J Clin Med* 2019;8:2013.

- COJOCARU M, COJOCARU IM, CHICOS B. New insights into antisynthetase syndrome. *Maedica* 2016;11:130.
- CONNORS GR, CHRISTOPHER-STINE L, ODDIS CV, et al. Interstitial lung disease associated with the idiopathic inflammatory myopathies: what progress has been made in the past 35 years? *Chest* 2010;138:6:1464-74.
- DA SILVA LMB, RATHORE U, AGARWAL V, GUPTA L, SHINJO SK. Demographic, clinical, laboratory data, prognostic, and treatment features of patients with antisynthetase syndrome: An international, two-center cohort study. *Arch Rheumatol* 2022;37.
- DALAKAS MC, HOHLFELD R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet* 2003;362:971-82.
- DIAZ M, FRAGA PS, SILVA MG, et al. Muscle biopsies in dermatomyositis and polymyositis: practical relevance of analyzing different levels of histological sections of the same muscular compartment. *J Bras Patol Med Lab* 2017;53:196-201.
- DUBOWITZ V, BROOKE MH. *Muscle biopsy: a practical approach*. London: Baillière Tindal 1985;2:19-81.
- HAMAGUCHI Y, FUJIMOTO M, MATSUSHITA T, et al. Common and distinct clinical features in adult patients with Anti-aminoacyl-tRNA synthetase antibodies: heterogeneity within the syndrome. *PloS One* 2013;8:4:e60442.
- HARRIS-LOVE MO, SHRADER JA, KOZIOL D, et al. Distribution and severity of weakness among patients with polymyositis, dermatomyositis and juvenile dermatomyositis. *Rheumatol* 2009; 48: 134-139.
- HERVIER B, BENVENISTE O. Clinical heterogeneity and outcomes of antisynthetase syndrome. *Curr Rheumatol Rep* 2013;15:349.

- HERVIER B, DEVILLIERS H, STANCIU R, et al. Hierarchical cluster and survival analyses of antisynthetase syndrome: phenotype and outcome are correlated with Anti-tRNA synthetase antibody specificity. *Autoimmun Rev* 2012;12:210-7.
- IMBERT-MASSEAU A, HAMIDOU M, AGARD C, et al. Antisynthetase syndrome. *Joint Bone Spine* 2003;70:161-8.
- KATZAP E, BARILLA-LABARCA ML, MARDER G. Antisynthetase syndrome. *Curr Rheumatol Rep* 2011; 13: 175.
- KASHIF M, ARYA D, NIAZI M, et al. A rare case of necrotizing myopathy and Fibrinous and organizing pneumonia with Anti-EJ antisynthetase syndrome and sjögren's syndrome (SSA) antibodies. *Am J Med Case Rep* 2017;18:448.
- LEGA JC, FABIEN N, REYNAUD Q, et al. The clinical phenotype associated with myositis-specific and associated autoantibodies: a meta-analysis revisiting the so-called antisynthetase syndrome. *Autoimmun Rev* 2014;13:9:883-91.
- LUNDBERG I, KRATZ AK, ALEXANDERSON H, et al. Decreased expression of interleukin-1alpha, interleukin-1beta, and cell adhesion molecules in muscle tissue following corticosteroid treatment in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2000;43:336-48.
- LUNDBERG IE, TJÄRNLUND A, BOTTAI M, et al. European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies and their major subgroups. *Arthritis Rheumatol* 2017;69:12:2271-82.
- MAMMEN AL. Autoimmune myopathies: autoantibodies, phenotypes and pathogenesis. *Nat Rev Neurol* 2011;7:343-54.

- MAMMEN AL. Necrotizing myopathies: beyond statins. *Curr Opin Rheumatol* 2014;26:6:679-83.
- MANN CJ. Observational research methods. Research design II: Cohort, cross sectional, and case-control studies. *Emerg Med J* 2003;20:54-60.
- MEHNDIRATTA P, MEHTA S, MANJILA SV, et al. Isolated necrotizing myopathy associated with Anti-PL12 antibody. *Muscle Nerve* 2012;46:282-6.
- MESCAM-MANCINI L, ALLENBACH Y, HERVIER B, et al. Anti-Jo-1 antibody-positive patients show a characteristic necrotizing perifascicular myositis. *Brain* 2015;138:2485-92.
- MEYER A, MESSER L, GOETZ J, et al. Immune-mediated necrotizing myopathies are serologically heterogeneous and autoantibodies may predict their clinical phenotype: two cases associated with Anti-PI7 antibodies. *Scand J Rheumatol* 2014;43:1:81-3.
- NICI L, DONNER C, WOUTERS E, ZUWALLACK R, et al. American thoracic society/European respiratory society statement on pulmonary rehabilitation. *Am J Respir Crit Care Med* 2016; 173: 1390-1413.
- PINHATA MM, NASCIMENTO JJD, MARIE SK, et al. Does previous corticosteroid treatment affect the inflammatory infiltrate found in polymyositis muscle biopsies. *Clin Exp Rheumatol* 2015;33:3:310-4.
- PONGRATZ D. Inflammatory myopathies. *Klin Neurophysiol* 2004;35:03:215.
- PRAYSON RA, O'TOOLE EE. Necrotizing myopathy in the setting of antisynthetase syndrome. *J Clin Mol Pathol* 2017;1:4.
- RIDER LG, GIANNINI EH, HARRIS-LOVE M, et al. Defining clinical improvement in adult and juvenile myositis. *J Rheumatol* 2003;30:603-617.

- ROJAS-SERRANO J, HERRERA-BRINGAS D, MEJÍA M, et al: Prognostic factors in a cohort of antisynthetase syndrome (ASS): serologic profile is associated with mortality in patients with interstitial lung disease (ILD). *Clin Rheumatol* 2015;34:1563-9.
- SANTOS AM, MISSÉ RG, BORGES IBP, et al. The aerobic capacity in patients with antisynthetase syndrome and dermatomyositis. *Adv Rheumatol* 2020;60:1:1-9.
- SCHLECHT N, SUNDERKÖTTER C, NIEHAUS S, NASHAN D. Update on dermatomyositis in adults. *JDDG: J Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 2020;18:995-1013.
- Shi J, Li S, Yang H, Zhang Y, Peng Q, et al. Clinical profiles and prognosis of patients with distinct antisynthetase autoantibodies. *J Rheumatol* 2017;44:1051-7.
- SHINJO SK, LEVY-NETO M. Anti-Jo-1 antisynthetase syndrome. *Rev Bras Reumatol* 2010;1:5-6.
- SHINJO SK, NASCIMENTO JJ, MARIE SK. The effect of prior corticosteroid use in muscle biopsies from patients with dermatomyositis. *Clin Exp Rheumatol* 2015;33:3:336-40.
- SOUZA FHC, CRUELLAS MGP, LEVY-NETO M, et al. Anti-synthetase syndrome: Anti-PL-7, Anti-PL-12 and Anti-EJ. *Rev Bras Reumatol* 2013;53:352-7.
- STENZEL W, PREUBE C, ALLENBACH Y, et al. Nuclear actin aggregation is a hallmark of antisynthetase syndrome - induced dysimmune myopathy. *Neurology* 2015;84:1346-54.
- URUHA A, SUZUKI S, SUZUKI N, et al. Perifascicular necrosis in Anti-synthetase syndrome beyond Anti-Jo-1. *Brain* 2016;139:9:e50-e50.
- VANHOUTTE EK, FABER CG, VAN NES SI, ET al. Modifying the Medical Research Council grading system through Rasch analyses. *Brain* 2012; 135:1639-1649.

VATTEMI G, MIRABELLA M, GUGLIELMI V, et al. Muscle biopsy features of idiopathic inflammatory myopathies and differential diagnosis. *Autoimmun Highlights* 2014;5:3:77-85.

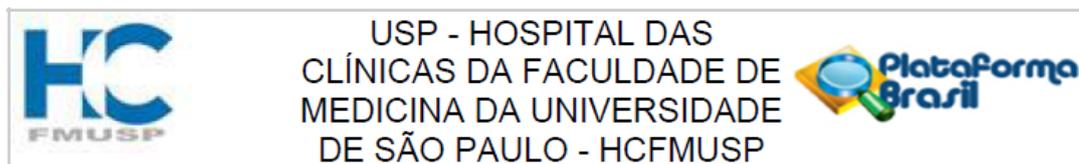
WITT LJ, CURRAN JJ, STREK ME. The diagnosis and treatment of antisynthetase syndrome. *Clin Pulm Med* 2016; 23: 218.

WEDDERBURN LR, VARSANI H, LI CK, et al. International consensus on a proposed score system for muscle biopsy evaluation in patients with juvenile dermatomyositis: a tool for potential use in clinical trials. *Arthritis Care Res* 2007;57:1192-201.

ZANFRAMUNDO G, TRIPOLI A, COMETI L, et al. One year in review 2020: idiopathic inflammatory myopathies. *Clin Exp Rheumatol* 2021;39:1-12.

8. Anexos

8.1. Parecer de aprovação do projeto no comitê de ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização histológica de biópsias musculares de pacientes com síndrome antissintetase

Pesquisador: Samuel Katsuyuki Shinjo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 39974020.4.0000.0068

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

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.451.820

Apresentação do Projeto:
Nova documentação foi encaminhada

Objetivo da Pesquisa:

Trata-se de projeto voltado para participantes como miopatias relacionadas à síndrome antissintetase.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são modestos (estudo retrospectivo)

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto é atual e de elevada qualidade, podendo trazer subsídios sobre a moléstia

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE foi anexado

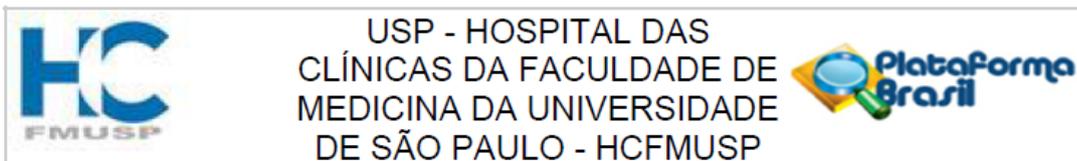
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há 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

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



Continuação do Parecer: 4.451.820

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_BASICAS_DO_PROJETO_1658116.pdf | 07/12/2020 20:43:31 | | Aceito |
| Outros | Resposta.docx | 07/12/2020 20:43:12 | Samuel Katsuyuki Shinjo | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE.doc | 07/12/2020 20:39:39 | Samuel Katsuyuki Shinjo | Aceito |
| Folha de Rosto | FolhaDeRosto.pdf | 09/11/2020 11:33:34 | Samuel Katsuyuki Shinjo | Aceito |
| Outros | Digital.pdf | 03/11/2020 14:57:19 | Samuel Katsuyuki Shinjo | Aceito |
| Orçamento | Financiamento.pdf | 03/11/2020 12:54:17 | Samuel Katsuyuki Shinjo | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | Projeto.docx | 03/11/2020 12:06:07 | Samuel Katsuyuki Shinjo | Aceito |
| Outros | Oficio.pdf | 03/11/2020 12:05:32 | Samuel Katsuyuki Shinjo | Aceito |
| Declaração de Pesquisadores | Declaracao.pdf | 03/11/2020 12:05:01 | Samuel Katsuyuki Shinjo | Aceito |
| Cronograma | Cronograma.doc | 03/11/2020 12:00:27 | Samuel Katsuyuki Shinjo | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

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

8.2. Manuscrito

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

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

Lila M B Silva ¹, Isabela B P Borges ¹, Samuel K Shinjo ²

Affiliations + expand

PMID: 36226626 DOI: 10.55563/clinexprheumatol/zq7x68

Abstract

Objectives: Until now, researchers have not provided a well-defined muscle histological pattern for antisynthetase syndrome (ASSD). Therefore, we aimed to analyse the muscle biopsies of patients with anti-Jo-1 ASSD.

Methods: This study included 26 patients with anti-Jo-1 ASSD admitted for investigation of the disease and obligatorily with muscle impairment, from 2010 to 2021, whose serial frozen muscle sections were analysed.

Results: Patients' mean age at disease diagnosis was 42.8 ± 11.6 years, and the female gender was most predominant. Concerning muscle biopsies, cell infiltrates were present in 76.9% of the samples, and they were mainly located at the endomysium area (70%), with a predominance of macrophages (92.9%). Fiber muscle necrosis was present in 92.3% and was diffused in 54.2%. Expression of MHC-I was seen in all samples. Samples were mostly marked by the presence of CD68+ and discreet/low CD4+ and CD8+ staining, which is consistent with a higher predominance of observed necrosis and macrophage cell infiltrates. In general, 38.5% of patients had a necrotising myopathy pattern in muscle biopsies, whereas 34.6% and 26.9% had a general inflammatory myopathy pattern and nonspecific myopathy, respectively. This necrotising myopathy pattern was not associated with the demographic, clinical, or laboratory data.

Conclusions: Our data show that almost 40% of patients with well-defined anti-Jo-1 ASSD with objective muscle impairment have a necrotising myopathy pattern in their muscle biopsies. Although this pattern is more classically related to immune-mediated necrotising myopathies, in association with clinical manifestations and the presence of anti-Jo-1 autoantibodies, this characteristic may lead to ASSD diagnosis.