



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

ANA CLARA SANTOS COSTA

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE METALOPROTEINASES DA MATRIZ E SEUS
INIBIDORES COMO INDICADORES DA ARTRALGIA PERSISTENTE EM
INDIVÍDUOS COM CHIKUNGUNYA**

Recife, PE
2023

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Costa, Ana Clara Santos.

Avaliação dos níveis de metaloproteínases da matriz e seus inibidores como indicadores da artralgia persistente em indivíduos com chikungunya / Ana Clara Santos Costa. - Recife, 2024.

72f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociência, Programa de Pós Graduação em Inovação Terapêutica, 2024.

Orientação: Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo.

Coorientação: Amanda Pinheiro de Barros Albuquerque.

Coorientação: Jamile Taniele da Silva.

Inclui referências e anexos.

1. Arbovirose; 2. Biomarcador; 3. Artralgia; 4. MMP; 5. TIMP. I. Rêgo, Moacyr Jesus Barreto de Melo. II. Albuquerque, Amanda Pinheiro de Barros. III. Silva, Jamile Taniele da. IV. Título.

UFPE-Biblioteca Central

ANA CLARA SANTOS COSTA

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE METALOPROTEINASES DA MATRIZ E SEUS
INIBIDORES COMO INDICADORES DA ARTRALGIA PERSISTENTE EM
INDIVÍDUOS COM CHIKUNGUNYA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial obtenção do Título de Mestre em Inovação Terapêutica.
Área de concentração: Fármacos, Medicamentos e Insumos Essenciais para a Saúde

Orientador: Profº Drº Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo

Coorientadoras: Dra. Amanda Pinheiro De Barros Albuquerque e Dra. Jamile Taniele da Silva

Recife, PE
2023

ANA CLARA SANTOS COSTA

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE METALOPROTEINASES DA MATRIZ E SEUS
INIBIDORES COMO INDICADORES DA ARTRALGIA PERSISTENTE EM
INDIVÍDUOS COM CHIKUNGUNYA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Inovação Terapêutica. Área de concentração: Fármacos, Medicamentos e Insumos Essenciais para a Saúde.

Aprovada em: 06/12/2023

BANCA EXAMINADORA

Maria Carolina Accioly Brelaz de Castro
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Anderson Rodrigues de Almeida
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Rodrigo Feliciano do Carmo
Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVA

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado a vida. Sem Ele eu nada seria.

Aos meus pais Viviane Santos e Alexandre Costa que são a minha base, a minha fortaleza, a minha vida. Tudo é por eles, para eles e com eles. Aos meus irmãos Alexandre Vinícius e João Paulo, que são a minha força e maior motivação a ser melhor todos os dias.

Ao meu esposo Vinícius Giles, você me impulsiona todos os dias, acredita em mim mais do que eu mesma, me levanta quando fraquejo. Você é meu respiro e calma em meio a turbulência.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr^o Moacyr Jesus Barreto pela oportunidade e confiança a mim concedidas para realizar este projeto. Às minhas coorientadoras Dr^a Amanda Pinheiro e Dr^a Jamile Taniele, por todo suporte, conversas, risadas, choros e acolhimento. Sem vocês este trabalho não teria sido realizado.

A Anderson Felix, que desde o primeiro dia foi meu apoio dentro e fora do laboratório, que me acolheu desde o início e sempre me disse “vai dar tudo certo”. Você me confortou e confiou em mim mesmo sem me conhecer, me ensinou tudo com leveza, alegria e carinho. Você é incrível, nunca se esqueça disso.

Aos meus amigos da vida e aos do laboratório, vocês foram essenciais, todos os dias, em diferentes grupos, em diferentes momentos. Vocês me ajudaram e me fortaleceram nessa jornada. Obrigada por cada risada, por cada conversa e apoio.

Agradeço ao Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas pela estrutura, à CAPES pelo apoio financeiro e ao REPLICK que me permitiram realizar este projeto.

“É justo que muito custe o que muito vale”

- Santa Teresa de Jesus

RESUMO

A Chikungunya (CHIK) é uma arbovirose emergente de alto impacto global causada pelo vírus Chikungunya (CHIKV), sendo caracterizada clinicamente em três fases: aguda (até 14 dias), subaguda (de 15 a 89 dias) e crônica (≥ 90 dias). A fase crônica da CHIK é caracterizada por alterações no microambiente articular, que se manifestam clinicamente através da artralgia persistente e edema nas articulações com impacto direto na qualidade de vida do paciente. Fatores solúveis como as Metaloproteínases da matriz (MMP) e os Inibidores Teciduais de Metaloproteínases (TIMP), podem desempenhar papel fundamental no estabelecimento da artralgia persistente, contribuindo para a degradação do tecido articular. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a potencial utilidade de MMPs e TIMPs como indicadores plasmáticos da artralgia persistente em indivíduos diagnosticados com a CHIK. Para tal, amostras de plasma foram coletadas de 102 participantes diagnosticados com CHIK, durante as fases aguda ou subaguda e crônica da doença, bem como dados sociodemográficos, clínicos e reumatológicos, também coletados na fase crônica, durante acompanhamento ambulatorial realizado no setor de reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. Os indivíduos foram avaliados quanto à artralgia persistente através da escala visual analógica (EVA), os quais foram agrupados de acordo com a persistência ($EVA \geq 1-10$, $n=68$) ou resolução ($EVA = 0$, $n=34$) da artralgia na fase crônica da CHIK. Amostras de voluntários assintomáticos que tiveram sorologia negativa para IgM e IgG anti-CHIKV foram utilizadas como grupo controle ($n=24$). Os níveis plasmáticos de MMP-2, MMP-9 e TIMP-2 foram analisados através ensaio multiplex utilizando beads (LegendPlex®). Os níveis plasmáticos de MMP-1, MMP-3, TIMP-1 e MMP-14/MT-1 foram analisados por ELISA Sanduiche. As análises estatísticas foram realizadas através dos softwares GraphPad Prism (versão 9.0), IBM® SPSS® Statistics (versão 25) e R, com significância considerada quando o valor de $p \leq 0,05$. Como resultado, a artralgia persistente na fase crônica está associada ao gênero e à manifestação durante a fase aguda/subaguda de: parestesia, prurido, rigidez matinal, classificações altas de dor articular, fadiga e atividade da doença, e ao número de articulações edemaciadas e a valores altos dos índices clínicos de CDAI e DAS-28. Foi possível verificar que indivíduos positivos para CHIK apresentaram níveis plasmáticos maiores de TIMP-1 ($p=0,0047$) e níveis menores do TIMP-2 ($p=0,0015$) quando comparados aos indivíduos saudáveis. Em relação ao desfecho clínico na fase crônica, em comparação ao controle, indivíduos com artralgia persistente apresentaram maiores níveis de TIMP-1 ($p=0,0231$) e indivíduos com resolução da artralgia apresentaram menores níveis de TIMP-2 ($p=0,0084$). Contudo, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos resolução e persistência da artralgia, o que refletiu na análise da sensibilidade e especificidade, cujos níveis de TIMP-1 ($AUC=0.52$) e TIMP-2 ($AUC=0.57$), durante a fase aguda e subaguda, não foram capazes de distinguir os indivíduos recuperados daqueles com artralgia persistente na fase crônica da CHIK. Os dados obtidos sugerem que as variações nos níveis plasmáticos de TIMP-1 e TIMP-2 estão envolvidas no estabelecimento da dor articular persistente na CHIK. Estudos futuros são necessários para investigar o papel destes mediadores solúveis nos mecanismos relacionados ao acometimento articular decorrente da CHIK, principalmente na fase crônica.

Palavras-chave: Arbovirose, Biomarcador, Artralgia, MMP, TIMP.

ABSTRACT

Chikungunya (CHIK) is an emerging arbovirus with high global impact caused by the Chikungunya virus (CHIKV), clinically characterized in three phases: acute (up to 14 days), subacute (15 to 89 days) and chronic (≥ 90 days). The chronic phase of CHIK is characterized by changes in the joint microenvironment, which manifest clinically through persistent arthralgia and joint edema with a direct impact on the patient's quality of life. Soluble factors such as Matrix Metalloproteinases (MMP) and Tissue Metalloproteinase Inhibitors (TIMP) can play a fundamental role in the establishment of persistent arthralgia, contributing to the degradation of joint tissue. Therefore, the objective of this study was to evaluate the potential usefulness of MMPs and TIMPs as plasma indicators of persistent arthralgia in individuals diagnosed with CHIK. To this end, plasma samples were collected from 102 participants diagnosed with CHIK, during the acute or subacute and chronic phases of the disease, as well as sociodemographic, clinical and rheumatological data, also collected in the chronic phase, during outpatient follow-up carried out in the rheumatology sector of the Hospital das Clínicas of the Federal University of Pernambuco. Individuals were assessed for persistent arthralgia using the visual analog scale (VAS), which were grouped according to the persistence ($VAS \geq 1-10$, $n=68$) or resolution ($VAS = 0$, $n=34$) of arthralgia in the chronic phase of CHIK. Samples from asymptomatic volunteers who had negative serology for anti-CHIKV IgM and IgG were used as a control group ($n=24$). Plasma levels of MMP-2, MMP-9 and TIMP-2 were analyzed using a multiplex assay using beads (LegendPlex®). Plasma levels of MMP-1, MMP-3, TIMP-1 and MMP-14/MT-1 were analyzed by Sandwich ELISA. Statistical analyzes were performed using GraphPad Prism (version 9.0), IBM® SPSS® Statistics (version 25) and R software, with significance considered when the p value ≤ 0.05 . As a result, persistent arthralgia in the chronic phase is associated with gender and the manifestation during the acute/subacute phase of: paresthesia, pruritus, morning stiffness, high ratings of joint pain, fatigue and disease activity, and the number of swollen joints and to high values of the CDAI and DAS-28 clinical indices. It was possible to verify that CHIK-positive individuals had higher plasma levels of TIMP-1 ($p=0.0047$) and lower levels of TIMP-2 ($p=0.0015$) when compared to healthy individuals. Regarding the clinical outcome in the chronic phase, compared to control, individuals with persistent arthralgia had higher levels of TIMP-1 ($p=0.0231$) and individuals with arthralgia resolution had lower levels of TIMP-2 ($p=0.0231$ 0084). However, no statistical differences were observed between the groups, resolution and persistence of arthralgia, which was reflected in the analysis of sensitivity and specificity, whose levels of TIMP-1 (AUC=0.52) and TIMP-2 (AUC=0.57), during the phase acute and subacute, were not able to distinguish recovered individuals from those with persistent arthralgia in the chronic phase of CHIK. The data obtained suggest that variations in plasma levels of TIMP-1 and TIMP-2 are involved in the establishment of persistent joint pain in CHIK. Future studies are needed to investigate the role of these soluble mediators in the mechanisms related to joint involvement resulting from CHIK, especially in the chronic phase.

Keywords: Arbovirus, Biomarker, Arthralgia, MMP, TIMP.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ciclo silvestre e urbano da transmissão do CHIKV	15
Figura 2 - Fases Clínicas e sintomatologia da Chikungunya.....	16
Figura 3 - Patogênese do vírus artritogênico	19
Figura 4 - Classificação das MMPs.....	21
Figura 5 - Localização e interações entre os TIMPs e MMPs.....	23
Figura 6 - Desenho experimental do estudo.	25
Figura 7 - Critérios de inclusão das amostras de participantes positivos para CHIK do presente estudo.....	26
Figura 8 - Avaliação dos níveis plasmáticos das enzimas MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1.	32
Figura 9 - Níveis plasmáticos dos TIMP-1 e TIMP-2 entre os controles e os positivos para CHIK.	34
Figura 10 - Análise de correlação de Pearson entre os níveis de MMPs e TIMPs.....	34
Figura 11 - Avaliação dos níveis plasmáticos das MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1 entre os Recuperados e os com Artralgia Persistente da fase crônica da CHIK.	35
Figura 12 - Níveis plasmáticos dos TIMP-1 e TIMP-2 entre os Recuperados e os com Artralgia Persistente da fase crônica da CHIK.	36
Figura 13 - Avaliação dos níveis das MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1 entre os grupos Controle, Agudos e Subagudos.	37
Figura 14 - Avaliação dos níveis plasmáticos de TIMP-1 e TIMP-2 nos grupos Controles, Agudos e Subagudos.	38
Figura 15 - Avaliação das MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1 entre as fases de recrutamento e os diferentes desfechos clínicos.	39
Figura 16 Avaliação dos níveis plasmáticos do TIMP-1 e TIMP-2 entre as fases de recrutamento e os diferentes desfechos clínicos.....	40
Figura 17 - Análise de Acurácia dos TIMPs para os grupos Recuperados e com Artralgia Persistente da fase crônica da CHIK.	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de casos prováveis e a taxa de incidência (/100 mil hab.) da Chikungunya no Brasil, Nordeste e em Pernambuco nos anos de 2016 e 2021.	14
Tabela 2 - Caracterização da amostra segundo o desfecho clínico dos infectados pelo CHIKV.	30
Tabela 3 - Mediana, mínimo e máximo dos níveis plasmáticos de MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1 nos grupos controle e positivos para CHIK.	32
Tabela 4 - Estatística descritiva dos grupos Controle, Recuperados e com Artralgia Persistente da CHIK nas MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINEs	Anti-inflamatórios não esteroides
APC	<i>Do inglês</i> , célula apresentadora de antígeno
AR	Artrite Reumatoide
AUC	<i>Do inglês</i> , Área Sob a Curva
CD4+	Linfócitos T CD4
CHIK	Chikungunya
CHIKV	Virus Chikungunya
DPIS	Dias Após o Início dos Sintomas
DPOC	Doença Crônica Obstrutiva Pulmonar
ELISA	<i>Do inglês</i> , Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FSC	<i>Do inglês</i> , Forward SCatter
HC-UFPE	Hospital das Clínicas – Universidade Federal de Pernambuco
IC	Intervalo de Confiança
IFN	Interferon Tipo I
IFN-g	Interferon gama
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-1 β	Interleucina-1 β
IL-6	Interleucina-6
LINAT	Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas
MEC	Matriz extracelular
MMP-1	Metaloproteinase de Matriz-1
MMP-14/MT1-MMP	Metaloproteinase de Matriz-14/ Metaloproteinase de Matriz Tipo Membrana-1
MMP-2	Metaloproteinase de Matriz-2
MMP-3	Metaloproteinase de Matriz-3
MMP-9	Metaloproteinase de Matriz-9
MMPs	Metaloproteinase de Matriz
OA	Osteoartrite
qRT-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa com Transcriptase Reversa
REPLICK	Rede de Pesquisa Clínica e Aplicada em Chikungunya

RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa
SES-PE	Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco
SSC	<i>Do inglês</i> , Side SCatter
TCD8+	Linfócitos T CD8
TIMP-1	Inibidor Tecidual de Metaloproteinase-1
TIMP-2	Inibidor Tecidual de Metaloproteinase-2
TIMPs	Inibidor Tecidual de Metaloproteinase
TMB	3,3',5,5'-tetrametilbenzidina
TNF- α	<i>Do inglês</i> , Fatores de Necrose Tumoral Alfa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral.....	13
2.2	Objetivos específicos.....	13
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1	Chikungunya	14
3.1.1	Histórico e epidemiologia.....	14
3.1.2	Transmissão vetorial.....	15
3.1.3	Manifestações clínicas	16
3.1.4	Diagnóstico e tratamento	18
3.2	Fisiopatologia do vírus da Chikungunya	19
3.3	Família Metaloproteinases da matriz	21
3.3.1	Classificação e estrutura das MMPs.....	21
3.3.2	Papel das MMPs na inflamação	22
3.4	Inibidor Tecidual de Metaloproteinases (TIMPs)	23
3.4.1	Classificação dos TIMPs	23
3.4.2	Regulação enzimática dos TIMPs	24
4	MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1	Tipo e Local de estudo.....	25
4.2	População de estudo e critérios de elegibilidade.....	25
4.3	Critérios de classificação para Chikungunya crônica.....	26
4.5	Obtenção das amostras de plasma dos participantes	26
4.6	ELISA Sanduíche	27
4.8	ELISA Multiplex - LegendPLex.....	27
4.9	Análise estatística.....	28
4.10	Considerações éticas	29
5	RESULTADOS	30
5.1	Caracterização sociodemográfica e clínica da população do estudo	30
5.2	Níveis plasmáticos das MMPs e TIMPs entre os controles e indivíduos com CHIK	32

5.3	Análises de associação e correlação entre os mediadores solúveis e as variáveis clínicas	34
5.4	Níveis plasmáticos das MMPs e TIMPs entre os Controles, Recuperados e os com Artralgia Persistente na CHIK crônica	35
5.6	Avaliação dos níveis plasmáticos dos mediadores solúveis considerando as fases aguda e subaguda da CHIK.....	37
5.6.1	Níveis plasmáticos das MMPs e TIMPs entre os grupos controles, agudos e subagudos	37
5.6.2	Níveis plasmáticos das MMPs e TIMPs entre as fases iniciais e os diferentes desfechos clínicos dos participantes positivos para CHIK.....	39
5.7	Análise de acurácia dos inibidores de MMPs como indicadores de artralgia persistente na CHIK crônica.....	41
6	DISCUSSÃO	43
7	CONCLUSÃO.....	46
	REFERÊNCIAS	47
	ANEXOS	47

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros relatos de CHIK ocorreram em 1952, na África e alcançou às Américas em 2013. Os primeiros casos no Brasil ocorreram em 2014, seguido pelo grande surto epidêmico em 2016, responsável por 277.882 casos prováveis e 239 óbitos confirmados. Cerca de 86% dos casos e 197 óbitos ocorreram na região Nordeste, e apenas no estado de Pernambuco foram notificados cerca de 50 mil casos (Brasil, 2017). Em 2021, ainda em Pernambuco, foi onde ocorreu o grande epicentro de uma segunda onda, sendo notificados 31.861 casos prováveis, o que correspondeu a 30% dos casos nacionais, com uma taxa de incidência de 329,3 casos/100 mil hab. (Brasil, 2021). Em ritmo crescente, nos anos de 2022 e 2023, houve uma sustentada epidemia no Brasil, em diferentes estados, onde Pernambuco foi considerado hiperendêmico segundo os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS).

Clinicamente, a CHIK é dividida em 3 fases: a primeira, a fase aguda, é caracterizada por um quadro febril de início súbito, cefaleia, mialgia e artralgia intensa, podendo apresentar *rash* cutâneo e com duração de até 14 dias. Na fase subaguda, a febre cessa, com intensificação das dores, principalmente nas articulações acometidas durante a fase aguda, durando até 3 meses (Cavalcanti *et al.*, 2022; Brasil, 2017). A fase crônica, que se inicia aos 90 dias após o início dos sintomas, é caracterizada pelo acometimento musculoesquelético do paciente e pela persistência da artralgia por meses ou anos. Os sintomas dessa fase interferem, sobretudo, na qualidade de vida e na capacidade laboral, impondo limitações físicas e mentais, sendo associada a episódios de ansiedade e/ou depressão nos indivíduos acometidos (Brasil, 2017).

Apesar da alta morbidade da CHIK, até o momento não existe tratamento específico para a doença. Atualmente, o controle vetorial é a principal estratégia para conter a propagação (Cavalcanti *et al.*, 2022; Battisti *et al.*, 2021). Nesse contexto, é imprescindível a investigação de mediadores solúveis que possam atuar com biomarcadores prognósticos do desfecho clínico desta doença, a fim de auxiliar no manejo daqueles que apresentam sintomas na fase crônica.

Dentre os mediadores solúveis envolvidos nas vias inflamatórias de doenças artritogênicas, semelhantes à CHIK, como a artrite reumatoide (AR) e osteoartrite (OA), destacam-se as Metaloproteinases da Matriz (MMP) e os Inibidores Teciduais de Metaloproteinases (TIMP), que têm sua participação em vias inflamatórias descrita na literatura, especificamente no processo de autorregulação (He *et al.*, 2020; Menou; Duitman; Crestani, 2018). Entretanto, ainda é desconhecido o papel desses mediadores ao longo das diferentes fases clínicas da CHIK.

As MMPs são enzimas responsáveis pela remodelação do tecido conjuntivo, incluindo a cartilagem e tecido sinovial (Cabral-Pacheco *et al.*, 2020). No entanto, quando seus níveis entram em desbalanceamento com os seus inibidores, os TIMPs, ocorre um processo de degradação desordenado do tecido (Cui; Hu; Khalil, 2017; Nguyen *et al.*, 2017). Com este papel fundamental, é possível que os MMPs e TIMPs estejam envolvidos no estabelecimento da artralgia decorrente da Chikungunya, sendo um dos responsáveis por provocar dores intensas nas articulações.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a utilidade de MMPs e TIMPs como potenciais indicadores plasmáticos do desfecho clínico de artralgia persistente em indivíduos diagnosticados com CHIK. Os resultados desse estudo podem contribuir para o desenvolvimento de novas condutas para o manejo clínico e para a elaboração de políticas públicas que visem a promoção da saúde e bem-estar dos indivíduos com manifestações crônicas da CHIK.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a potencial utilidade de MMPs e TIMPs como indicadores plasmáticos da artralgia persistente em indivíduos diagnosticados com CHIK.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar os níveis plasmáticos de MMPs e TIMPs durante as fases aguda/subaguda da CHIK;
- Verificar associações entre os níveis plasmáticos das MMPs e TIMPs durante as fases aguda/ subaguda da CHIK e as características sociodemográficas e clínicas durante as fases aguda/subaguda da CHIK;
- Avaliar a sensibilidade e especificidade das MMPs e TIMPs para serem utilizados como biomarcadores plasmáticos prognósticos da artralgia persistente na CHIK crônica.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Chikungunya

3.1.1 Histórico e epidemiologia

A CHIK é uma arbovirose transmitida por mosquitos fêmeas do gênero *Aedes*. O agente etiológico da CHIK é o vírus Chikungunya (CHIKV), um vírus artrítogênico, de alto impacto global, devido sua emergência para países tropicais e subtropicais e a alta morbidade causada pela doença. O CHIKV foi identificado pela primeira vez em 1952 ao sul da Tanzânia e foi denominado Chikungunya, que significa “aqueles que se dobram” no dialeto Makonde, em referência a postura curvada dos infectados devido às dores excruciantes (An *et al.*, 2017).

Desde o primeiro isolamento até meados de 2004, houve vários surtos esporádicos na África e na Ásia. Contudo, em 2005, ocorreu o grande surto epidêmico nas Ilhas do Oceano Índico, especialmente na Ilha de La Reunión, onde estima-se que 1/3 (226.000 habitantes) da população foi infectada. Após esse surto, vários surtos de CHIK foram relatados na África, na Ásia e em países da Europa (Borgherini *et al.*, 2007).

Em 2013, o CHIKV foi identificado nas Américas, mais especificamente nas ilhas do Caribe, e em setembro de 2014, o vírus foi identificado no Brasil, em Oiapoque (AP) e em Feira de Santana (BA). Em 2015, quase um milhão de casos foram notificados nas Américas, resultando em 71 mortes, e a transmissão autóctone foi confirmada em mais de 50 territórios (De Lima Cavalcanti *et al.*, 2022).

Em 2016 houve um grande surto de proporções epidêmicas, com 277.882 casos prováveis notificados em todo o território brasileiro e 216 óbitos confirmados. A região Nordeste registrou cerca de 86% dos casos notificados (239.714 casos prováveis) e 197 óbitos confirmados e 158 em investigação. Neste ano, o Estado de Pernambuco registrou uma taxa de incidência superior à do Nordeste e do Brasil, notificando 50.139 casos prováveis e 55 óbitos. (Tabela 1) (Brasil 2016, 2021).

Tabela 1 - Número de casos prováveis e a taxa de incidência (/100 mil hab.) da Chikungunya no Brasil, Nordeste e em Pernambuco nos anos de 2016 e 2021.

	2016		2021	
	Casos prováveis (n)	Incidência (/100mil hab.)	Casos prováveis (n)	Incidência (/100mil hab.)
Brasil	277.882	134,8	96.288	45,1
Nordeste	229.157	405,2	66.430	115,2
Pernambuco	47.349	506,7	31.828	329,0
	20,6%	↑125%*	47,9%	↑285,5%*

Legenda: Informações sobre os casos e a taxa de incidência (/100 mil hab.) da Chikungunya no Brasil, no Nordeste e em Pernambuco nos anos de 2016 e 2021. *Valores que indicam a porcentagem em que Pernambuco possui a taxa de incidência maior do que a região Nordeste.

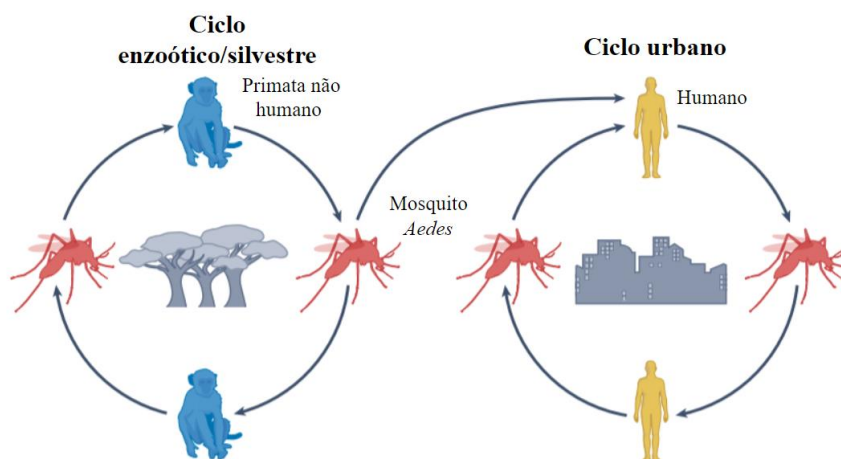
Fonte: Brasil, 2016 e 2021.

Em 2021, em meio a pandemia da COVID-19, o Estado de Pernambuco, localizado no Nordeste do Brasil, viveu um aumento de 473% nos números de casos da Chikungunya, segundo a Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco (2021), registrando uma taxa de incidência de 285% maior do o Nordeste, sendo destaque não só da região, mas também do Brasil, com o maior número de casos (33% de todos os casos do Brasil) e a maior taxa de incidência/100 mil habitantes (Brasil, 2021).

3.1.2 Transmissão vetorial

A transmissão vetorial ocorre através do repasto sanguíneo de fêmeas do mosquito *Aedes*. No ciclo urbano, há a predominância das espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Mowatt; Jackson, 2014). A transmissão humano-mosquito-humano é a principal causadora da atual epidemia no Hemisfério Ocidental. A transmissão silvestre é mais comum na África e é caracterizada pelo ciclo enzoótico, com ciclo animal-mosquito-humano, como ilustrado na Figura 1 (Ojeda Rodriguez; Haftel; Walker, III, 2023; Zamarina *et al.*, 2021).

Figura 1 - Ciclo silvestre e urbano da transmissão do CHIKV



Legenda: O CHIKV é endêmico em primatas não humanos, onde existe em um ciclo enzoótico entre o animal e o mosquito *Aedes*. No entanto, o vírus pode ser transmitido a um hospedeiro humano através do mosquito e se estabelecer em um ciclo humano-mosquito sem a necessidade de um reservatório animal.

Fonte: Adaptado de Bartholomeeusen *et al.* (2023).

O *A. aegypti* possui ampla distribuição mundial, principalmente em regiões urbanas e com perturbações ambientais (Gómez *et al.*, 2022). Em contrapartida, o *A. albopictus* coloniza todos os cinco continentes, por ser ecologicamente mais flexível, pode ser encontrado em

habitats suburbanos, rurais, silvestres e em países temperados. E além de humanos, o *A. albopictus* infecta também gado, anfíbios, répteis e aves (Kraemer *et al.*, 2019; Ryan *et al.*, 2019; Leta *et al.*, 2018).

A capacidade desses dois mosquitos responsáveis pela transmissão, de provocar surtos, vem da sua competência biológica e vetorial, em que a probóscide adaptada permite a invasão assertiva no tecido epitelial humano e o seu mesentério (intestino médio) possui uma única camada de células epiteliais (Kramer; Ciota, 2015) onde durante o repasto sanguíneo o CHIKV se abriga, principalmente na porção posterior do mesentério (Vancini *et al.*, 2013; Houk *et al.*, 1985). Fatores extrínsecos e intrínsecos, como barreiras contra o mosquito e questões ambientais, também influenciam nos potenciais surtos (Ojeda Rodriguez; Haftel; Walker, III, 2023)

Mesmo com os esforços de reduzir a expansão vetorial, fatores como mudança climática, globalização, urbanização e resistência a diferentes inseticidas contribuem para o sucesso das espécies (Gómez *et al.*, 2022).

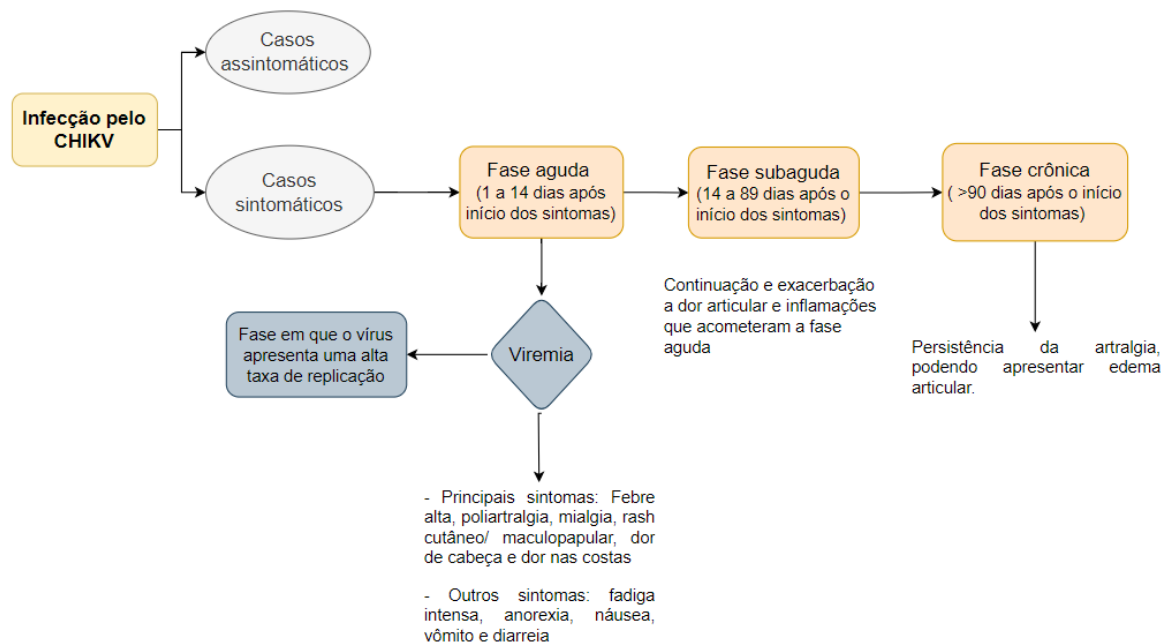
3.1.3 Manifestações clínicas

Os sintomas da CHIK inicialmente podem se confundir com os das outras arboviroses (dengue e zika), porém possui características diferenciais, como a febre alta de início súbito, as dores e o inchaço nas articulações. A doença dispõe de três fases: Aguda (até 14 dias após o início dos sintomas), subaguda (de 14 a 89 dias após o início dos sintomas) e crônica (mais de 90 dias de persistência dos sintomas reumatológicos) (Guaraldo *et al.*, 2018; Brasil, 2017).

3.1.3.1 Fase aguda

A fase aguda é caracterizada por apresentar febre alta ($\geq 38,5^\circ$) e de início súbito, poliartralgia intensa, mialgia, *rash* cutâneo/maculopapular, cefaleia e artralgia (Erin Staples; Breiman; Powers, 2009; Simon *et al.*, 2007). Outros sintomas que também podem aparecer é a fadiga intensa, anorexia, náusea, vômito e diarreia (Sutaria; Amaral; Schoen, 2018) (Figura 2).

Figura 2 - Fases Clínicas e sintomatologia da Chikungunya



Fonte: Adaptado de Brasil, 2017.

3.1.3.2 Fase subaguda

A fase subaguda é caracterizada pela remissão dos sintomas da fase aguda como a febre e *rash* cutâneo; e ocorre a exacerbação das dores e inflamações, geralmente nas mesmas articulações atingidas durante a fase aguda (Figura 2). A inflamação se manifesta principalmente em tornozelos, mãos, pulsos, dedos dos pés e é menos comum em articulações maiores (Guaraldo *et al.*, 2018; Sutaria; Amaral; Schoen, 2018; Burt *et al.*, 2017). A duração da fase subaguda é de 15 a 89 dias após o início dos sintomas. A resolução da doença ocorre durante essa fase em 60% dos casos (Sánchez; Cañón; Lombo, 2019; Brasil, 2017).

3.1.3.3 Fase crônica

A fase crônica é clinicamente marcada pela persistência da artralgia após 90 dias do início dos sintomas e pode apresentar artrite periférica e simétrica e edema nas articulações durante meses ou anos (Sutaria; Amaral; Schoen, 2018). As manifestações musculoesqueléticas da infecção pelo CHIKV levam à incapacidade aguda e crônica, impactando principalmente a qualidade de vida dos pacientes e tendo peso considerável na economia de áreas epidêmicas (An *et al.*, 2017).

A prevalência da persistência dos sintomas articulares na fase crônica varia de acordo com as populações estudadas. Um estudo realizado com 152 pacientes na Colômbia, 53,7% tiveram sintomas persistentes por 6 meses (Rodriguez-Morales *et al.*, 2016); outros estudos obtiveram 4-82% dos sintomas articulares persistentes e sem remissão, variando de meses a

anos (Ganesan; Duan; Reid, 2017; Gérardin *et al.*, 2011). O recente estudo de O'Driscoll *et al.*, 2021 mostrou que a prevalência esperada da artralgia é de 72, 21% após 3 meses de infecção. Dentre os fatores associados à artralgia persistente estão a idade avançada, a presença de doença articular prévia, a intensidade da dor durante a fase aguda, a carga viral e titulação de anticorpos IgM e o envolvimento de diferentes articulações na fase inicial da doença (Guaraldo *et al.*, 2018).

A CHIK também pode manifestar-se através de sintomas neurológicos, como dor neuropática, distúrbios cerebrais, comprometimento neurosensorial e parestesia, bem como depressão (Burt *et al.*, 2017; Guaraldo *et al.*, 2018). Esses sintomas ainda são estudados para entender a sua correlação com a infecção, porém demonstram a gravidade da doença e o quanto é necessário a continuidade dos estudos acerca da sua influência na saúde e os seus possíveis tratamentos.

3.1.4 Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico da CHIK é baseado em anamnese, avaliação clínica e se possível, laboratório, com exame sorológico para IgM ou diagnóstico molecular por RT-qPCR (Dash; Mohanty; Padhi, 2011; Zamarina *et al.*, 2021). Considerando as limitações na realização de exames laboratoriais, o Guia de Manejo clínico do Ministério da Saúde (2017) indica que a associação de febre aguda de início súbito com artralgia e/ou artrite intensa é altamente sugestiva, com uma concordância de 85% entre esses sintomas (Brasil, 2017; Macpherson *et al.*, 2016).

Para um diagnóstico laboratorial do CHIKV existem três possibilidades: 1 – Isolamento do vírus; 2- técnicas moleculares de detecção do RNA genômico viral (PCR em tempo real) e 3- Testes sorológicos (ELISA). A PCR pode ser realizada até sete dias depois do início dos sintomas e ELISA (IgM ou IgG) deve ser requerida a partir do décimo dia do início dos sintomas. O isolamento do CHIKV deve ser solicitado apenas em casos específicos, como em formas atípicas da doença (Marques *et al.*, 2017a).

Acerca do tratamento, os dados são limitados por falta de avaliações terapêuticas adequadas (Guaraldo *et al.*, 2018). Durante a fase aguda o tratamento é centrado nos sintomas, indicando hidratação e repouso. Não é indicado os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), devido à alta possibilidade de sangramento e o risco de dengue nos pacientes, assim como salicilatos e corticosteroides (Brasil, 2017; Marques *et al.*, 2017).

Durante a fase subaguda há a recomendação de anti-inflamatório não hormonal como o ibuprofeno e corticoides, de preferência a prednisona. Na fase crônica ou quando o nível de dor

é classificado como alta, segundo o EVA, é inserido medicamentos como metotrexato e hidroxicloroquina em associação ou não a analgésicos indicados na fase aguda ou a sulfassalazina, que possui ação antireumatóide (Marques *et al.*, 2017).

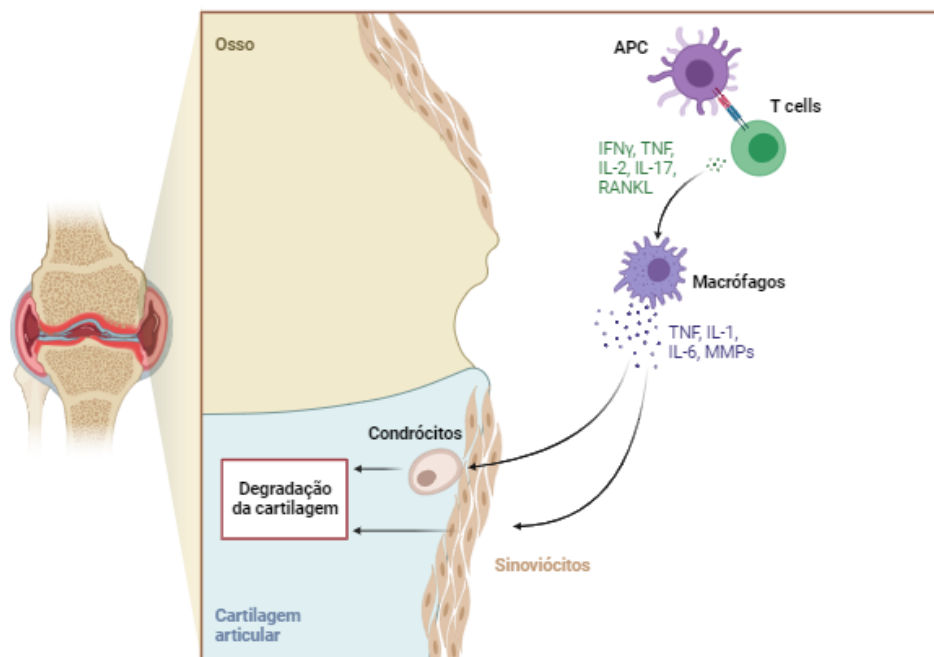
3.2 Fisiopatologia do vírus da Chikungunya

A via de infecção utilizada pelo CHIKV tem início após a inoculação e infecção das células mais susceptíveis, como as células epiteliais e endoteliais, fibroblastos primários e macrófagos derivados de monócitos (Sourisseau *et al.*, 2007). Após a inoculação e subsequente migração para os linfonodos, o vírus desencadeia uma reação imune e se propaga pelo sistema linfático e circulatório, caracterizando o estado de viremia do paciente, que marca o início dos sintomas e pode durar até 10 dias (Kam *et al.*, 2009). O vírus utiliza os macrófagos derivados de monócitos infectados para alcançar os músculos, articulações, fígado e cérebro, principais locais de replicação do CHIKV (Sourisseau *et al.*, 2007).

Ao identificar uma infecção, o organismo inicia mecanismos na tentativa de eliminar o vírus. Uma das funções do interferon tipo I (IFN) é a inibição da replicação viral e o CHIKV estimula indiretamente a produção do IFN através da ativação de células não hematopoiéticas, como os fibroblastos (Ganesan; Duan; Reid, 2017; Schilte *et al.*, 2012). A reação inflamatória mediada por linfócitos TCD8+, TCD4+ e citocinas pró-inflamatórias é responsável pelos sintomas agudos da doença. Já a doença articular crônica é causada por um reservatório persistente de monócitos infectados nas articulações (Ojeda Rodriguez; Haftel; Walker, III, 2023; Chow *et al.*, 2011).

Artralgia vivenciada por pacientes da CHIK são muito semelhantes aos sintomas induzidos por alguns outros alfavírus artrítogênicos. Essa infecção promove a ativação de macrófagos e induz a secreção do Fator de Necrose Tumoral (TNF- α), Interleucina -1 β (IL-1 β) e IL-6, sendo seguidos pelo desbalanço nos níveis de MMPs, como MMP-1 e MMP-3, sugerindo envolvimento no dano articular (Assunção-Miranda; Bozza; Da Poian, 2010). Além disso, já foi observado que a resposta imunológica induzida por macrófagos de vírus artrítogênico e da AR são semelhantes, condição também marcada por fortes dores articulares e destruição de tecidos causada por citocinas (Ninla-Aesong; Mitarnun; Noipha, 2019) (Figura 3).

Figura 3 - Patogênese do vírus artrítogênico



Legenda: Através das Células Apresentadoras de Antígeno (APC), o vírus artritogênico é apresentado às células Th1, que por meio da liberação de uma série de citocinas pró-inflamatórias, ativam os macrófagos, que são responsáveis pela resposta imunológica. Após essa ativação, uma série de citocinas e enzimas são liberadas provocando um desbalanceamento no processo de remodelação do tecido cartilaginoso, provocando a degradação articular.

Fonte: Adaptado Biorender®, 2023.

Em pacientes com AR, estudos *in vivo* demonstram um elevado nível de MMP-2, MMP-3 e MMP-9, tendo um papel fundamental na quebra dos componentes da matriz (Cabral-Pacheco *et al.*, 2020). Johnson (2006) relatou a importância dos níveis elevados do TIMP-2 para o atraso de lesões teciduais (Johnson *et al.*, 2006). Em pacientes com artrite persistente causada pelo CHIKV, Ninla-Aesong (2019) comprovou que eles tiveram uma maior produção significativa nos níveis de MMP-1 e MMP-3 tanto em comparação com os pacientes recuperados, quanto em comparação com os controles (Ninla-Aesong; Mitarnun; Noipha, 2019). Assim, é possível que a resposta imunológica da artralgia crônica provocada pelo CHIKV seja semelhante a resposta da AR.

Os principais sintomas da artralgia persistente provocada pelo vírus da Chikungunya são as dores intensas e inchaços nas articulações, caracterizando a artralgia e futuramente a poliartralgia. Com a infecção, o vírus promove a ativação dos macrófagos, onde são liberadas diversas citocinas pró-inflamatórias e enzimas, com as metaloproteinases da matriz (MMP) (Bartholomeusz; Locarnini, 2006). Isso significa que as células linfocitárias Th1 são as responsáveis pela resposta imune do paciente, produzindo grandes quantidades de interferon gama (IFN-g) (Ninla-Aesong; Mitarnun; Noipha, 2019).

3.3 Família Metaloproteínases da matriz

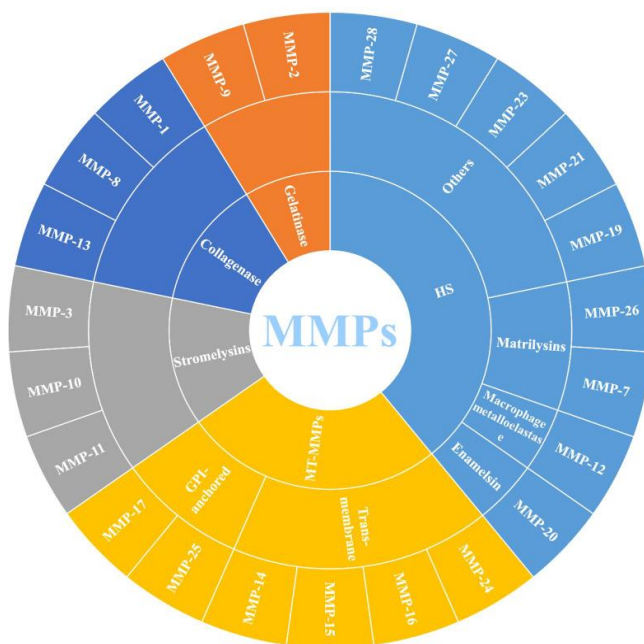
As MMPs são uma família de endopeptidases e o prefixo ‘metalo’ sugere que essas enzimas são dependentes de zinco para realizar a hidrólise de substratos proteicos (Khokha; Murthy; Weiss, 2013) e estão envolvidas na degradação de várias proteínas da matriz extracelular, em especial no tecido cartilaginoso (Nguyen et al., 2017). As enzimas predominantes envolvidas na degradação são: MMP-1, MMP-3, MMP-9 e MMP-13 (Murphy; Nagase, 2008; Neuhold *et al.*, 2001). São de natureza extracelular, porém já foi identificado que a MMP-1 (Limb *et al.*, 2005), MMP-2 (Kwan *et al.*, 2004) e MMP-11 (Luo *et al.*, 2002) também podem se estabelecer intracelularmente e atuar a nível proteico (Nagase; Visse; Murphy, 2006).

Durante a infecção, há o aumento de citocinas pró-inflamatórias, dentre elas a Interleucina-6 (IL-6) e TNF- α , que também são responsáveis pelo aumento na produção de MMP-3 e MMP-9 no sangue periférico (Ninla-Aesong; Mitarnun; Noipha, 2019; Bartholomeusz; Locarnini, 2006). O aumento das MMPs reflete no aumento da degradação da cartilagem, ao mesmo tempo que a liberação do seu inibidor significa o aumento da síntese dessa cartilagem, ou seja, maior produção tecidual, contribuindo para a recuperação do paciente (Haller *et al.*, 2015).

3.3.1 Classificação e estrutura das MMPs

A figura 4 mostra as 23 diferentes MMPs encontradas em humanos, que podem ser divididas em 5 categorias de acordo com suas diferentes funções e estruturas: (1) collagenase (MMP-1, MMP-8 e MMP-13); (2) gelatinase (MMP-2 e MMP-9); (3) estromelisinases (MMP-3, MMP-10 e MMP-11); (4) MMPs do tipo membrana (MT), que podem ser divididos em dois tipos: tipos transmembrana (MMP-14, MMP-15, MMP-16 e MMP-24, também conhecidos como MT1-MMP, MT2-MMP, MT3-MMP e MT5-MMP) e tipos ancorados em glicosilfosfatidilinositol (GPI) (MMP-17 e MMP-25, também conhecidos como MT4-MMP e MT6-MMP) e (5) subgrupos heterogêneos (HS) (Li *et al.*, 2022).

Figura 4 - Classificação das MMPs



Fonte: Li *et al.*, 2022.

As MMPs são altamente homólogas, contendo multidomínios e seu sítio ativo é dependente de zinco. A família das MMPs apresenta em comum um propeptídeo de cerca de 80 aminoácidos ácidos, um domínio de metaloproteínases catalítica de cerca de 170 aminoácidos, um peptídeo ligante (dobradiça região) de comprimento variável e um domínio de hemopexina de cerca de 200 aminoácidos (Cui; Hu; Khalil, 2017; Li *et al.*, 2022).

3.3.2 Papel das MMPs na inflamação

Dentro do microambiente tecidual, as MMPs desencadeiam vias de sinalização que regulam a produção de citocinas e influenciam tanto a inflamação sistêmica quanto na resposta imunológica de barreira (Khokha; Murthy; Weiss, 2013).

As MMPs são sintetizadas como zimogênios, ou seja, precursor inativo da enzima, necessitando uma alteração bioquímica para ativação, que nesse caso, ocorre a clivagem de seu domínio pró-peptídeo, e após essa transformação é que podem ser inibidas por algum TIMP. A atividade e especificidade das MMPs também são controladas através da compartimentação das MMPs em uma determinada localização intracelular ou extracelular, possivelmente através de sua interação com glicosaminoglicanos (Tocchi; Parks, 2013).

Um dos papéis da MMP na inflamação é a modificação de agentes quimiotáticos para a migração eficiente de neutrófilos através de vasos sanguíneos e tecidos para os locais de infecção (Khokha; Murthy; Weiss, 2013). Alguns estudos demonstraram como as MMPs podem atuar na via quimiotática: 1- A MMP-9, secretada pelos neutrófilos, processa um fragmento amino-terminal de IL-8 para aumentar a sua potência celular de 10 a 27 vezes mais

(Van Den Steen *et al.*, 2000); 2- O envolvimento da MMP-2 na inativação proteica por quimiotaxia de monócitos 3 (MCP3), que participa da atração de células mononucleares, sugerindo que a participação da MMP na resposta inflamatória (Mcquibban *et al.*, 2000). Outro estudo também mostrou que a ausência de MMP-7 compromete o gradiente de quimiocinas CXCL3, responsável por atrair neutrófilos para a inflamação (Li *et al.*, 2002).

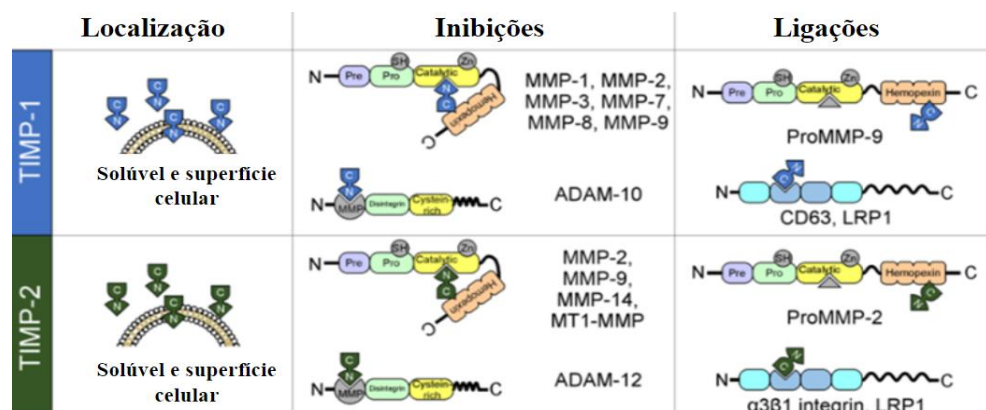
3.4 Inibidor Tecidual de Metaloproteínas (TIMPs)

3.4.1 Classificação dos TIMPs

Os TIMPs são reguladores de proteína endógena e podem ser encontrados na MEC em sua forma solúvel, exceto pelo TIMP-3, que mantém uma ligação estreita com a MEC. A inibição do TIMP é reversível e ocorre por uma ligação estequiométrica, ou seja, na proporção de 1:1 (Jackson *et al.*, 2017). Além de inibir as MMPs, também ocorre a inibição dos grupos das desintegrina e metaloproteínas (ADAMs) e ADAMs com motivos de trombospondina (ADAMTSs) (Arpino; Brock; Gill, 2015).

Existem quatro principais TIMPs conhecidos, que são classificados como TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 e TIMP-4. Cada um desses TIMPs desempenha funções específicas na inibição das metaloproteínas e na modulação da matriz extracelular, bem como na resposta inflamatória. O TIMP-1 e o TIMP-2 foram ilustrados na figura a seguir com a sua localização, inibições e ligações (Figura 5).

Figura 5 - Localização e interações entre os TIMPs e MMPs



Legenda: Estruturalmente, os TIMPs são compostos por dois domínios agrupados lado a lado (domínios N-terminal e C-terminal). O domínio N-terminal é algumas vezes referido como “domínio inibitório”. TIMP-1 inibe MMP-1–3 e MMP-7–9; TIMP-2 inibe MMP-2, MMP-9, MMP-14 e metaloproteases de matriz 1 do tipo membrana (MT1-MMP); além disso, os TIMPs interagem com as pró-formas das MMPs de maneira não inibitória e também possuem funções independentes da inibição das MMP, ligando-se diretamente aos receptores da superfície celular (TIMP-1 a CD63; TIMP-2 à integrina α3β1 e LRP1).

Fonte: Adaptado de Cabral-Pacheco *et al.*, 2020.

3.4.2 Regulação enzimática dos TIMPs

Cada inibidor corresponde a indicadores específicos para a síntese da cartilagem. Os principais são o TIMP-1 que se correlaciona ao epítipo 846 e o TIMP-2 que se liga ao nível de PIICP (Nguyen *et al.*, 2017; Ishiguro *et al.*, 1999). Os TIMPs possuem baixa especificidade de ligação com as MMPs e cada TIMP pode inibir vários MMPs com diferentes eficácias. Um desbalanceamento na relação estequiométrica de 1:1 entre eles, causa uma alteração na atividade específica da MMP (Cui; Hu; Khalil, 2017b).

Alterações no equilíbrio em favor das MMPs pode resultar em aumento da proteólise da MEC, ao mesmo tempo em que a mudança em favor dos TIMPs, pode culminar na proteção da MEC, consequentemente diminuição da proteólise. Além da sua principal função, de inibidor, alguns estudos mostram que os TIMPs também atuam de forma independente, como por exemplo um estudo demonstrou que TIMP-1 pode mediar a angiogênese através da interação com $\beta 1$ integrina e CD63 (Arpino; Brock; Gill, 2015).

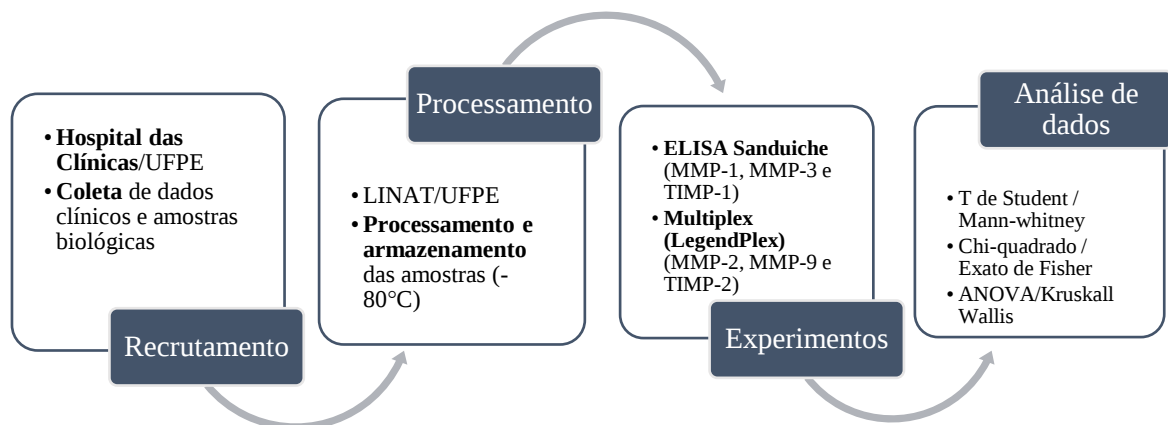
Outros estudos com camundongos *Knockout* para diferentes MMPs e TIMPs demonstrou que a atuação dos TIMPs também está associada ao processamento de proteínas biologicamente ativas, incluindo citocinas, quimiocinas e proteínas da superfície celular (Mccawley; Matrisian, 2001; Parks; Wilson; López-Boado, 2004). E essa produção também tem efeito indireto na renovação da matriz, pela via de sinalização do fator de crescimento β (TGF- β), inflamação ou número de células semelhantes a fibroblastos (Arpino; Brock; Gill, 2015).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tipo e local do estudo

O presente estudo é uma subcoorte derivada de um projeto multicêntrico da Rede de Pesquisa Clínica e Aplicada em Chikungunya (REPLICK) (Da Silva Duarte *et al.*, 2023). Trata-se de um estudo observacional longitudinal utilizando dados e amostras plasmáticas de indivíduos diagnosticados com CHIK, coletados nas diferentes fases da doença. Os indivíduos foram acompanhados no ambulatório do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) e os testes foram realizados no Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas (LINAT) seguindo o desenho experimental ilustrado na Figura 6.

Figura 6 - Desenho experimental do estudo.



Fonte: O autor (2023).

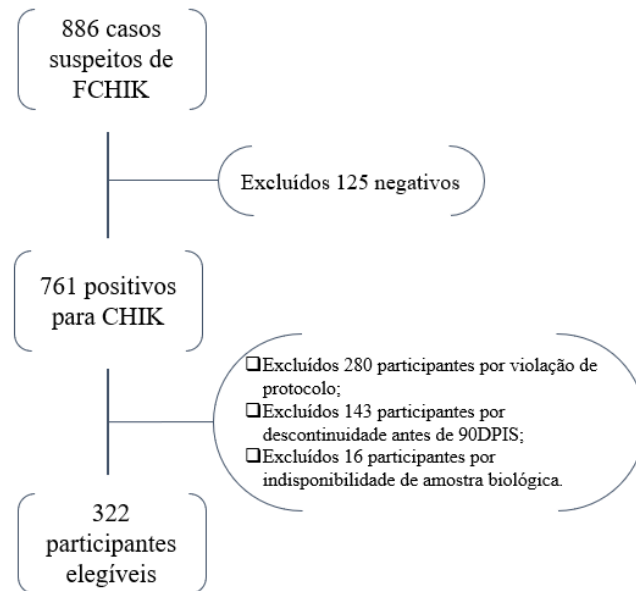
4.2 População de estudo e critérios de elegibilidade

Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 1) e foram aplicados questionários semiestruturados, validados e traduzidos para o português, utilizados para a coleta de dados sociodemográficos, clínicos e para a avaliação do acometimento musculoesquelético (ANEXOS 2-6).

Dos 886 participantes com suspeita da CHIK, foram incluídos 761 participantes diagnosticados com Chikungunya por meio de RTq-PCR, ELISA (IgM) e/ou Teste rápido durante as fases aguda/subaguda da doença, com disposição de dados sociodemográficos, clínicos e reumatológicos completos na fase de recrutamento, que permaneceram no estudo

pelo período de no mínimo 90 dias após o início dos sintomas e que possuíam amostras de plasma disponíveis no biobanco do centro Recife vinculado à REPLICK (Figura 7).

Figura 7 - Critérios de inclusão das amostras de participantes positivos para CHIK do presente estudo.



Fonte: o autor (2023).

Dos 322 participantes elegíveis, foram selecionados randomicamente 102 participantes, com a proporção de 2:1 entre os grupos, os quais foram agrupados como “Recuperados” ($n = 35$) e “Artralgia Persistente” ($n = 67$) conforme critérios especificados no item 4.3. Amostras de indivíduos declaradamente saudáveis foram utilizadas como grupo controle ($n = 24$).

4.3 Critérios de classificação para Chikungunya crônica

Para a classificação dos participantes em artralgia persistente ou resolução, a Escala Visual Analógica (EVA) para dor articular autorreferida (ANEXO 5) foi considerada de acordo com os seguintes critérios: o participante foi classificado como “recuperado” (resolução da artralgia) nos casos em que foi respondido zero (0) para dor articular na EVA na primeira visita após completar 90 dias após o início dos sintomas da CHIK; o participante foi classificado como “crônico” (artralgia persistente) nos casos em que foi respondido valores de 1 a 10 para dor articular na EVA na primeira visita após completar 90 dias após o início dos sintomas da CHIK.

4.5 Obtenção das amostras de plasma dos participantes

Assim que as amostras dos indivíduos foram coletadas no HC-UFPE, foram encaminhadas para o LINAT-UFPE para o processamento. Os tubos de EDTA contendo sangue

total foram homogeneizados por inversão e centrifugados a 3000 rpm com aceleração 6 e desaceleração 4 para as alíquotas do plasma. Após este processo as amostras foram armazenadas no ultra freezer, na temperatura de -80°C. Com isso foram separadas alíquotas de 100µL do plasma de cada um dos 102 pacientes selecionados para os experimentos.

4.6 ELISA Sanduíche

Para a quantificação do MMP-1 (Cat. N°: DY901B-05), MMP-3 (Cat N°: DY513-05), TIMP-1 (Cat N°: DY970-05) e MMP-14/MT-1 (Cat N°: DY918-05) (Human DuoSet ELISA - R&D Systems) foi realizado o ELISA Sanduíche com a prévia sensibilização da placa com o anticorpo de captura *overnight*, à temperatura ambiente (25°C). No dia seguinte, a placa foi lavada 3 vezes com a solução de lavagem e saturada com o diluente de ensaio por 1 hora. Logo após, a curva padrão foi adicionada em duplicata com a diluição seriada realizada conforme o protocolo do fabricante. O controle negativo, ou seja, o diluente sem amostra, foi realizado em triplicata e por fim, foi inserido o plasma dos pacientes segundo o plano de placa.

Após as 3 lavagens com o diluente de ensaio, colocou-se o anticorpo de detecção, permanecendo por mais 2 horas, em temperatura ambiente (25°C) e repetiu-se a lavagem. Em seguida, iniciou-se a etapa fotossensível do protocolo, com a Estreptavidina conjugada por 20 min, no escuro. Lavou-se novamente a placa para a finalização do experimento com o substrato cromógeno 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) por 20 min e a solução de STOP para parar a reação e realizar a leitura. Esta foi executada no leitor de placa de ELISA (Thermo scientific - accuSkan FC (Fisher Scientific)) no filtro de 450 nm. O limite inferior de detecção de cada analito foi: MMP-1: 62,5 pg/mL; MMP-3: 31,3 pg/mL; MMP-14: 0,625 ng/mL; TIMP-1: 31,3 pg/mL.

4.8 ELISA Multiplex - LegendPlex

Para desenvolver esta etapa, as enzimas MMP-2, MMP-9 e TIMP-2 foram analisados através da metodologia multiplex LegendPlex™ (BioLegend, San Diego, EUA) com o kit Custom Human 3-plex Panel (Item N°: 900004902). Com as alíquotas das amostras descongeladas, a primeira parte do processo foi homogeneizar o *vial* do standard e realizar a diluição seriada conforme indicado no protocolo. Nos 96 poços da placa de experimento com o fundo em V foi colocado o tampão de ensaio, em seguida foi aliquoteado o standard em duplicata e colocado as amostras, conforme o plano de placa. Após isso, o *vial* do pré-mix das beads de captura foi homogeneizado em um vórtex por 30 segundos e inserido em toda placa.

A placa foi selada com selador de placas e papel alumínio e deixado em agitação a 800 rpm por 2 horas a temperatura ambiente (25°C).

Decorrido este tempo a placa foi centrifugada por 5 minutos a 250 g. Em seguida, desprezou-se o sobrenadante, a placa foi lavada com tampão de lavagem (25 ml de Wash Buffer + 475 ml de água destilada) sob agitação por 1 min. A adição do anticorpo de detecção foi realizada em seguida e a incubação ocorreu em uma agitadora de placas por 1 hora a 800 rpm. Após esta etapa, a estreptavidina ligada ao fluorocromo PE (SA-PE) foi adicionada e a incubação ocorreu sob agitação a 800 rpm durante 30 minutos. Após as lavagens e ressuspensão, as amostras foram adquiridas em citômetro de fluxo (BD FACSAria II). Com base nos perfis de dispersão direta (FSC) e dispersão lateral (SSC), as beads se diferenciam por tamanho, obtendo então dois conjuntos (A e B). Os analitos MMP-2 e TIMP-2 compõem o conjunto A (A4 e A8, respectivamente), sendo as beads menores. O analito MMP-9 faz parte do conjunto B (B7), compondo as beads maiores.

Para a aquisição dos dados, foi necessário criar um modelo no citômetro, definir a taxa de fluxo como baixa e o número de aquisições para 300 eventos por analito. Um grande *gated* foi definido para incluir as beads A e B, com o intuito excluir a maioria dos detritos. Após a leitura de todas as amostras, a análise dos dados foi realizada no Software de Análise de Dados LEGENDplex™ Qqognit. O limite inferior de detecção de cada analito foi: MMP-2: 158,20; MMP-9: 87,80 e TIMP-2: 60,0.

4.9 Análise estatística

A análise estatística foi realizada por meio do software GraphPad Prism (versão 9.0) gravando os resultados como medianas com variância interquartil para dados não paramétricos e como média com desvio padrão (DP) para dados paramétricos. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade dos dados.

Para mensurar a diferença estatística entre os grupos controles e positivos para Chikungunya foi utilizado o teste T de Student não pareado (dados paramétricos) e o Teste de Mann-Whitney (dados não paramétricos). As análises envolvendo variáveis e desfechos, utilizaram o Teste ANOVA (Análise de Variância) One-way e o pós teste de múltiplas comparações de Tukey (dados paramétricos) e o Teste de Kruskal-wallis e o pós teste Dunn (dados não paramétricos).

A acurácia foi analisada através da análise da curva ROC, conforme os valores da Área Sob a Curva (AUC, do inglês *Area Under Curve*). Os valores de AUC foram considerados:

AUC > 0,9 excelente; 0,8-0,89 bom; 0,7-0,79 pobre; 0,6-0,79 ruim; 0,51-0,59 péssimo; e quando inferior a 0,5 não tem valor diagnóstico.

O valor de significância estatística a ser considerado foi de $p \leq 0,05$. Foi utilizado também o software *IBM® SPSS® Statistics* para as análises estatísticas descritivas e software *Rstudio* para as correlações clínicas entre o desfecho e os níveis plasmáticos enzimáticos.

4.10 Considerações éticas

Esse projeto segue os princípios da Declaração de Helsinque e os princípios e diretrizes da Resolução do Conselho Nacional de Saúde (CNS) nº 466, de 12 de dezembro de 2012. No qual este projeto está embasado na aprovação do Comitê de Ética em pesquisa da UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO sob parecer nº 3.555.583 e CAAE: 07936919.8.2010.5208.

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização sociodemográfica e clínica da população do estudo

A caracterização do recrutamento permitiu observar que a maioria dos indivíduos foram recrutados durante a fase subaguda, diagnosticados por ELISA com média de 30 dias após início dos sintomas (Tabela 2).

Tabela 2 - Caracterização da amostra segundo o desfecho clínico dos infectados pelo CHIKV.

			Positivos CHIK		Recuperados		Artralgia Persistente			
			N	%	N	%	N	%		
Total			102	100%	34	(33,3%)	68	(66,7%)		
Dados de recrutamento	DPIS	Média DP	30,74 ± 21,32		40,97 ± 21,32		25,62 ± 19,54			
		[Min-Max]	[1-79]		[2-79]		[1-77]			
	Método de diagnóstico	ELISA	82	80,4%	23	67,6%	59	85,3%		
		RT-qPCR	2	2,0%	1	2,9%	1	1,5%		
		Teste rápido	17	16,7%	9	26,5%	8	11,8%		
	Fase CHIK	Agudo	30	29,4%	4	11,8%	26	38,2%		
Subagudo		72	70,6%	30	88,2%	42	61,8%			
Dados sociodemográficos	Idade	Média DP	52,86 ± 21,32		52,97 ± 17,28		52,81 ± 12,87			
		[Min-Max]	[19-84]		[20-84]		[19-79]			
	Gênero	Feminino	72	71,3%	18	52,9%	54	80,6%		
		Masculino	29	28,7%	16	47,1%	13	19,4%		
Dados clínicos	Histórico Médico*	Hipertensão	32	31,4%	11	32,4%	21	30,9%		
		Rinite	24	23,5%	5	14,7%	19	27,9%		
		Doença vascular	24	23,5%	6	17,6%	18	26,5%		
		Anemia	14	13,7%	2	5,9%	12	17,6%		
		Diabetes	12	11,8%	3	8,8%	9	13,2%		
		Doença hepática	11	10,8%	2	5,9%	9	13,2%		
		Artralgia	99	97,1%	32	94,1%	67	98,5%		
	Sintomas*	Febre	89	87,3%	30	88,2%	59	86,8%		
		Rash cutâneo	75	73,5%	21	61,8%	54	79,4%		
		Edema	72	70,6%	20	58,8%	52	76,5%		
		Cefaleia	65	63,7%	16	47,1%	49	72,1%		
		Fadiga	64	62,7%	18	52,9%	46	67,6%		
		Prurido	61	59,8%	14	41,2%	47	69,1%		
		Parestesia	53	52,0%	13	38,2%	40	58,8%		
		Mialgia	34	33,3%	9	26,5%	25	36,8%		
		Turvação	22	21,6%	4	11,8%	18	26,5%		
		Hiperemia	17	16,7%	3	8,8%	14	20,6%		
		Dados reumatológicos	Categoria Atividade da Doença**	Remissão	6	5,9%	4	11,8%	2	2,9%
				Baixa	16	15,7%	7	20,6%	9	13,2%
Moderado	34			33,3%	14	41,2%	20	29,4%		
Alta	45			44,1%	9	26,5%	36	52,9%		
Doença reumatológica prévia	Sim		24	23,5%	5	14,7%	19	27,9%		
	Não		78	76,6%	29	85,3%	49	72,1%		
Distúrbios articulares	Bursite		5	4,9%	0	0,0%	5	7,4%		
	Tenossinovite		6	5,9%	0	0,0%	6	8,8%		
	Entesite		1	1,0%	0	0,0%	1	1,0%		

	Síndrome do Túnel do Carpo	19	18,6%	5	14,7%	14	20,6%
Rigidez matinal	Sim	68	66,7%	18	52,9%	50	73,9%
	Não	34	33,3%	16	47,1%	18	26,5%
Rigidez matinal - Tempo	Todo o dia	12	17,6%	3	15,8%	9	18,4%
	< 30 min	27	39,7%	6	31,6%	21	42,9%
	> 30min e < 1 hora	13	19,1%	6	31,6%	7	14,3%
	> 1 hora e < 2 horas	10	14,7%	2	10,5%	8	16,3%
	> 2 horas e < 4 horas	5	7,4%	2	10,5%	3	6,1%
	> 4 horas	1	1,5%	0	0%	1	2,0%
Dor nas articulações na última semana***	Média DP [Min-Max]	7,57 ± 2,39 [0-10]		6,21 ± 2,52 [0-10]		8,25 ± 2,02 [3-10]	
Fadiga na última semana***	Média DP [Min-Max]	5,84 ± 3,40 [0-10]		4,35 ± 3,45 [0-8]		6,56 ± 3,14 [0-10]	
Atividade da Condição reumática***	Média DP [Min-Max]	6,10 ± 2,64 [0-10]		8,25 ± 2,02 [0-10]		6,65 ± 2,31 [0-10]	
Número de articulações dolorosas	Média DP [Min-Max]	11,32 ± 9,95 [0-37]		8,79 ± 8,41 [0-34]		12,59 ± 10,46 [0-37]	
Número de articulações edemaciadas	Média DP [Min-Max]	2,75 ± 4,01 [0-24]		1,18 ± 1,75 [0-7]		3,54 ± 4,57 [0-24]	
Velocidade de hemossedimentação (VHS)	Média DP [Min-Max]	28,11 ± 13,39 [2-72]		23,56 ± 13,11 [2-48]		30,88 ± 12,09 [4-72]	
DAS-28	Média DP [Min-Max]	4,03 ± 1,30 [0,6-6,6]		3,50 ± 1,20 [0,6-5,7]		4,35 ± 1,26 [1,9-6,6]	
Índice Clínico de Atividade da Doença (CDAI)	Média DP [Min-Max]	22,60 ± 14,34 [0-64]		16,65 ± 10,24 [0-37]		25,57 ± 15,21 [0-64]	

Legenda: DPIS= Dias após o início dos sintomas; DP = Desvio Padrão.

*Foram declarados apenas valores positivos para o histórico médico e os sintomas no momento do recrutamento.

** Classificação conforme índice clínico CDAI.

*** Valores da Escala Visual Analógica (EVA).

Fonte: o autor (2023).

Não foram observadas diferenças estatísticas significantes na média da idade entre os grupos analisados. Em relação ao gênero, foi observada uma associação a artralgia persistente e o gênero feminino ($p = 0,004$), onde as mulheres possuem maior chance de desenvolver artralgia persistente na fase crônica (OR: 3,692).

A artralgia persistente na fase crônica foi associada com a manifestação de parestesia ($p = 0,050$; OR = 3,849), prurido ($p = 0,007$; OR = 7,361) e rigidez matinal ($p = 0,038$; OR = 2,469) durante a fase aguda/subaguda. A média dos valores na EVA foi maior em indivíduos

que evoluíram com artralgia persistente na fase crônica para dor articular ($p < 0,001$), fadiga ($p = 0,001$) e atividade da doença ($p = 0,003$) durante a fase aguda/subaguda.

A maioria daqueles que persistiram com artralgia na fase crônica tiveram a atividade da doença classificada como alta (52,9%) durante as fases aguda/subaguda, enquanto a maioria dos recuperados tiveram atividade da doença classificada como moderada (41,2%).

Houve diferença estatística significativa entre o grupo de indivíduos recuperados e com artralgia persistente em relação à quantidade de articulações edemaciadas ($1,18 \pm 1,75$ versus $3,54 \pm 4,57$; $p < 0,001$) e nos valores de hemossedimentação (VHS) ($23,56 \pm 13,12$ versus $30,88 \pm 12,90$; $p = 0,011$). Em relação aos índices clínicos, os pacientes que evoluíram com artralgia persistente pontuaram maiores valores no CDAI ($25,57 \pm 15,21$ versus $16,65 \pm 10,24$; $p = 0,032$) e do DAS-28 ($4,35 \pm 1,26$ versus $3,50 \pm 1,20$) durante a fase aguda/subaguda.

5.2 Níveis plasmáticos das MMPs e TIMPs entre os controles e indivíduos com CHIK

Inicialmente foi realizada uma comparação entre os níveis das MMPs e TIMPs entre os indivíduos positivos para CHIK e o grupo controle (Tabela 3 e Figura 8).

Tabela 3 - Mediana, mínimo e máximo dos níveis plasmáticos de MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1 nos grupos controle e positivos para CHIK.

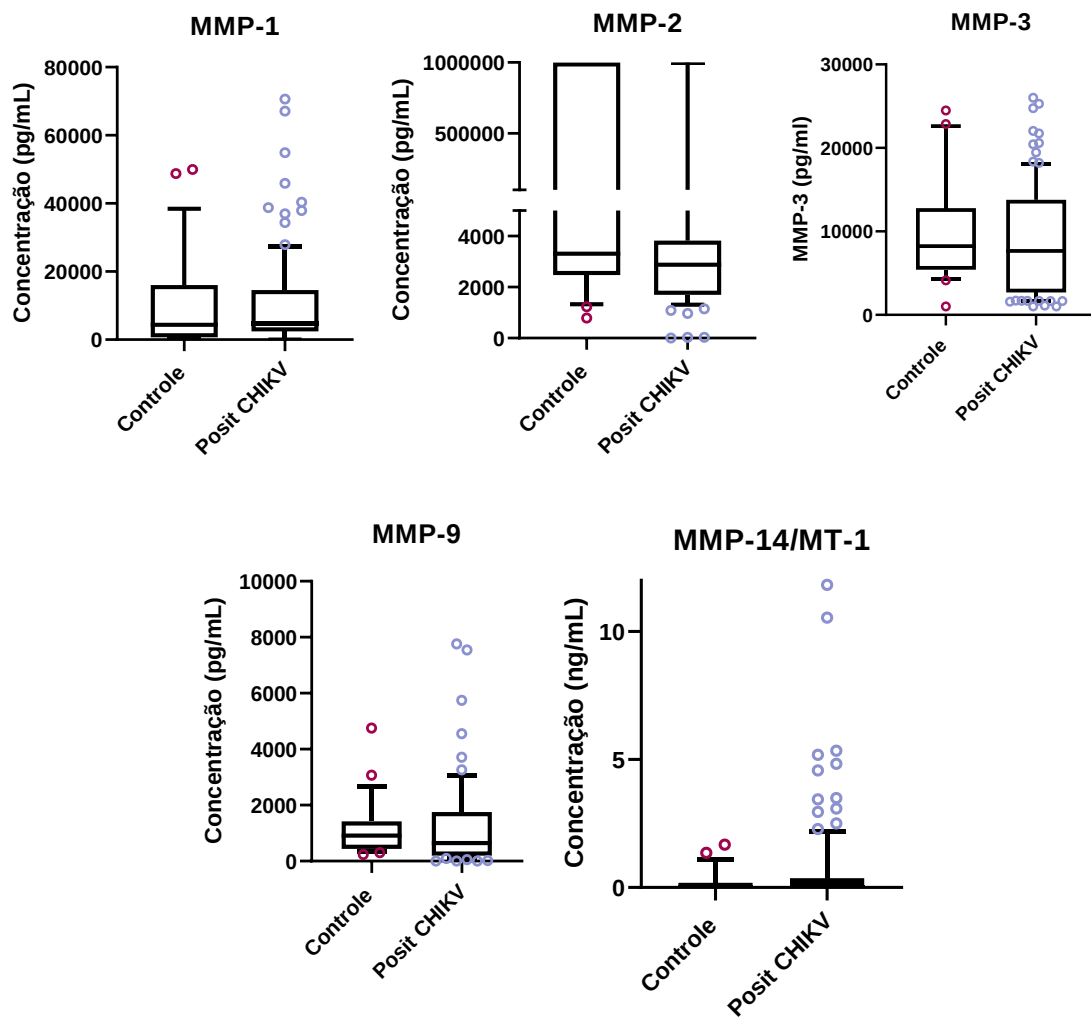
Mediana (Min-Máx)			
	Grupo Controle	Grupo positivo CHIKV	p valor
MMP-1	2,99 ng/ml (0-18,13)	4 ng/ml (0-16,29)	0,5132
MMP-2	3,025 ng/ml (0,792-4,23)	2,52 ng/ml (0-5,79)	0,5858
MMP-3	8,241 ng/ml (1-24,49)	7,66 ng/ml (1-26)	0,1693
MMP-9	0,886 ng/ml (0,238-3,069)	0,598 ng/ml (0-3,051)	0,1186
MMP-14/MT-1	0 ng/ml (0 – 1,67)	0 ng/ml (0-11,82)	0,1274

Legenda: Foi considerado estatisticamente significativo quando $p \leq 0,05$.

Fonte: o autor (2023).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os níveis de MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1 (Figura 8).

Figura 8 - Avaliação dos níveis plasmáticos das enzimas MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1.

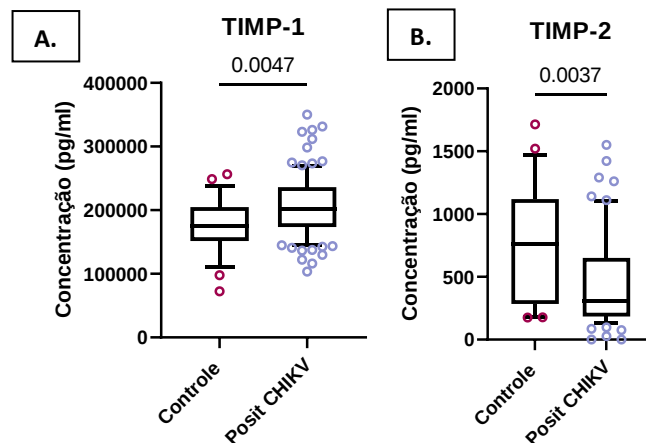


Legenda: Comparação do nível plasmático das Metaloproteínases da Matriz (MMP)-1, -2, -3, -9 e -14/MT-1 dos controles e dos participantes positivos para CHIKV. **A.** MMP-1; **C.** MMP-3 [Grupos controle (N=24), positivos para CHIKV (N=102)]. **B.** MMP-2; **D.** MMP-9 [Grupos controle (N=23), positivos para CHIKV (N=69)]. Foi considerado estatisticamente significativo quando $p \leq 0,05$.

Fonte: o autor (2023).

Ao analisar os níveis de TIMPs, foi possível verificar que, quando comparado com o controle (175,30 ng/ml), o grupo positivo para CHIK (202,65 ng/ml) apresentou maiores níveis plasmáticos de TIMP-1 ($p=0,0047$). Em relação ao TIMP-2, quando comparado ao grupo controle (0,764 ng/ml), menores níveis plasmáticos foi observado entre os positivos para CHIK (0,292 ng/ml) ($p=0,0037$) (Figura 9).

Figura 9 - Níveis plasmáticos dos TIMP-1 e TIMP-2 entre os controles e os positivos para CHIK.



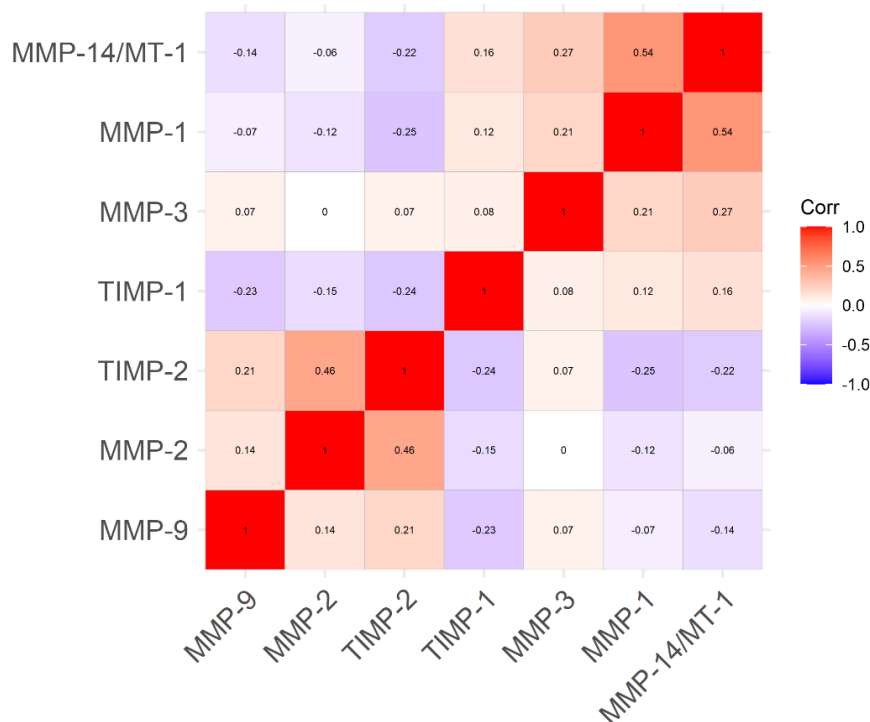
Legenda: Comparação do nível dos Inibidores Teciduais de Metaloproteinases (TIMP)-1 e -2 no plasma dos controles e participantes positivos para CHIKV. Em todos os gráficos foram identificados e retirados os *outliers* pelo método de ROUT. **A.** TIMP-1 [Grupos controle (N=24), positivos para CHIKV (N=102)]. **B.** TIMP-2 [Grupos controle (N=23), Recuperados (N=69)]. Foi considerado estatisticamente significativo quando $p \leq 0,05$.

Fonte: o autor (2023).

5.3 Análises de associação e correlação entre os mediadores solúveis e as variáveis clínicas

Inicialmente, buscou-se identificar possíveis correlações entre os níveis das MMPs e dos TIMPs analisados (Figura 10).

Figura 10 - Análise de correlação de Pearson entre os níveis de MMPs e TIMPs



Legenda: Valores de coeficiente de correlação (r) entre 0 e 1: correlação positiva; entre 0 e -1: correlação negativa; 0: ausência de correlação.

Fonte: O autor (2023).

Foi possível observar uma correlação positiva moderada entre as metaloproteinases MMP-14 e MMP-1 ($r = 0,54$, $p < 0,001$) e entre o inibidor TIMP-2 e a metaloproteinase MMP-2 ($r = 0,46$; $p < 0,001$).

Ao buscar associações entre os níveis de MMPs e as características reumatológica dos indivíduos, foi possível observar que indivíduos infectados com CHIKV que tinham doença reumatológica prévia apresentavam maiores níveis de MMP-3, quando comparados com aqueles que não tinham histórico médico de doença reumatológica ($11.210,4 \pm 7770,3$ ng/ml *versus* $7.945,3 \pm 5728,4$ ng/ml; $p = 0,029$).

5.4 Níveis plasmáticos das MMPs e TIMPs entre os Controles, Recuperados e os com Artralgia Persistente na CHIK crônica

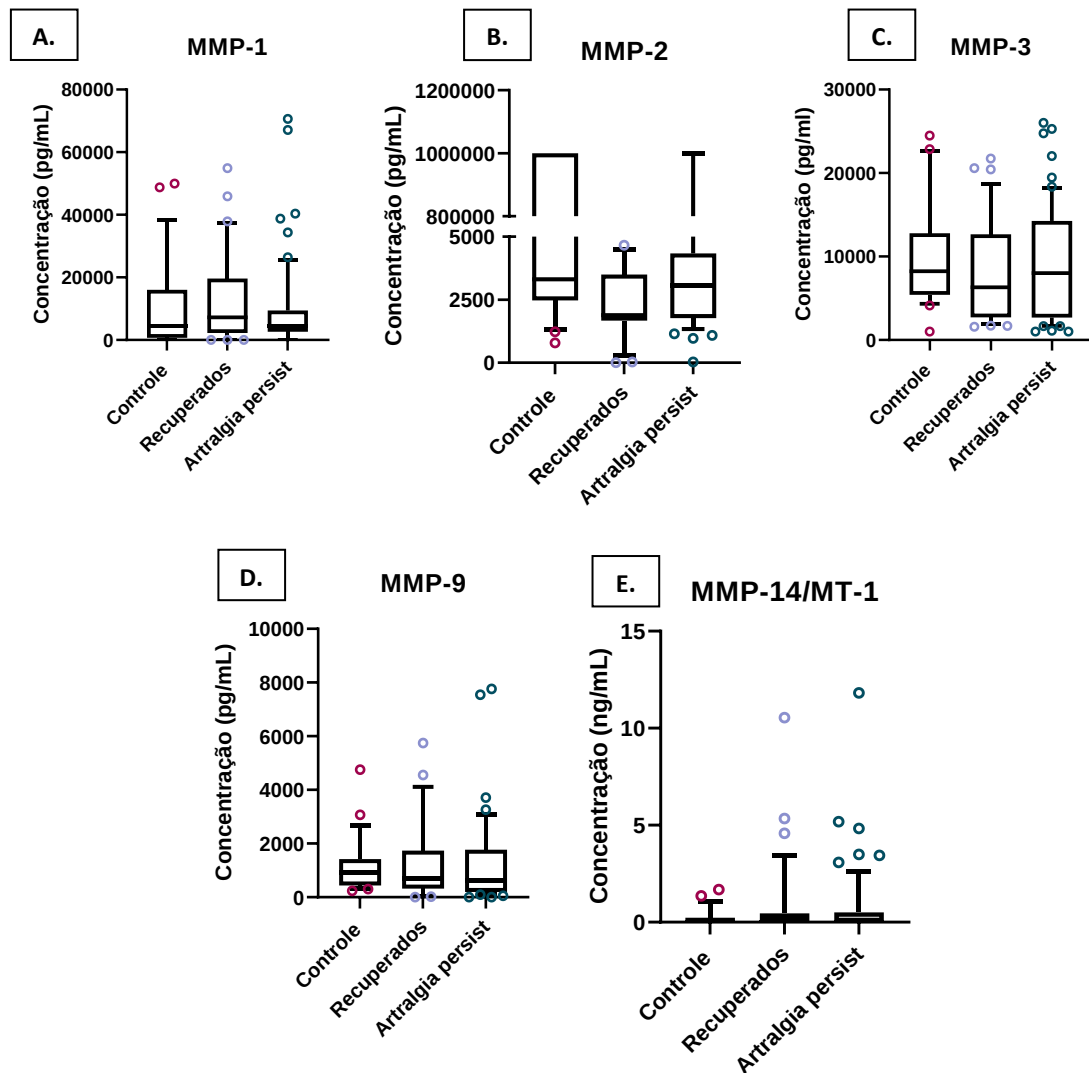
Com o intuito de investigar variações nos níveis plasmáticos dos mediadores solúveis, os indivíduos com persistência ou resolução da artralgia na fase crônica da CHIK foram comparados com o grupo controle (Tabela 4).

Tabela 4 - Estatística descritiva dos grupos Controle, Recuperados e com Artralgia Persistente da CHIK nas MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1.

Mediana (Mín-Máx)				p valor
	Grupo Controle	Grupo Recuperados	Grupo Artralgia Persistente	
MMP-1	2,99 ng/ml (0-18,13)	6,87 ng/ml (0-37,89)	4 ng/ml (0-16,29)	0,1018
MMP-2	3,025 ng/ml (792,0-4297)	1,86 ng/ml (0-4,66)	2,73 ng/ml (0,03-5,79)	0,4806
MMP-3	8,24 ng/ml (1-24,49)	4,47 ng/ml (1,58-17,90)	8,02 ng/ml (1-26)	0,0771
MMP-9	0,89 ng/ml (0,239-3,07)	0,640 ng/ml (0-2,35)	0,41 ng/ml (0-2,57)	0,1640
MMP-14/MT-1	0 ng/ml (0-1,67)	0 ng/ml (0-10,55)	0 ng/ml (0-11,82)	0,1948

Foi possível observar que não houveram diferenças estatísticas significantes dos níveis plasmáticos de MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-3/MT-1 entre os indivíduos recuperados e os com Artralgia Persistente (Figura 11).

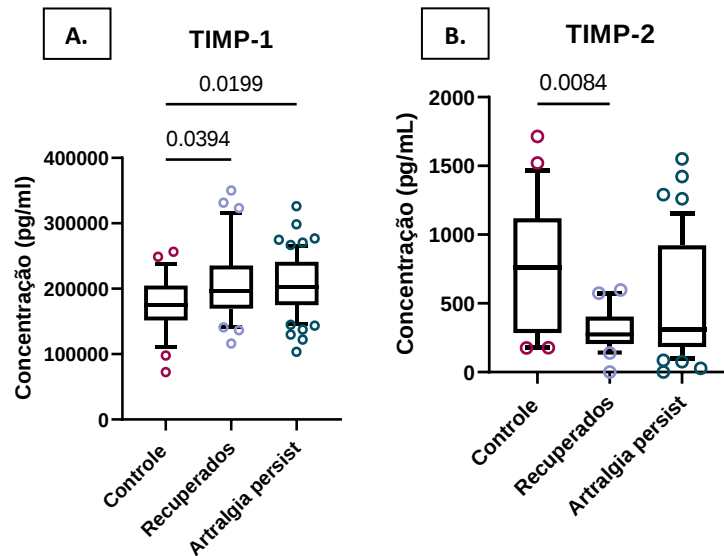
Figura 11 - Avaliação dos níveis plasmáticos das MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1 entre os Recuperados e os com Artralgia Persistente da fase crônica da CHIK.



Legenda: Comparação dos níveis plasmáticos das Metaloproteinasas da Matriz (MMP)-1, -2, -3, -9 e -14/MT-1 de Controles, Recuperados e com Artralgia Persistente. **A.** MMP-1; **C.** MMP-3 **E.** MMP-14/MT-1 [Grupos controle (N=24), Recuperados (N=35), Artralgia persistente (N=67)]. **B.** MMP-2; **D.** MMP-9 [Grupos controle (N=23), Recuperados (N=20), Artralgia persistente (N=49)]. Foi considerado estatisticamente significativo quando $p \leq 0,05$.
Fonte: o autor (2023).

A mesma análise foi realizada em relação aos níveis dos TIMPs. O grupo com Artralgia Persistente (202,65 ng/ml) apresentou maior nível de TIMP-1 em comparação com o Controle (175,30 ng/ml) ($p=0,0199$). E em comparação com o mesmo grupo, os participantes recuperados apresentaram maior nível de TIMP-1 (196,661 ng/ml) ($p=0,0394$). Em relação ao TIMP-2, os indivíduos recuperados (0,273 ng/ml) apresentaram menores níveis de TIMP-2 em comparação com o grupo controle (0,764 ng/ml) ($p=0,0084$) (Figura 12).

Figura 12 - Níveis plasmáticos dos TIMP-1 e TIMP-2 entre os Recuperados e os com Artralgia Persistente da fase crônica da CHIK.



Legenda: Comparação dos níveis plasmáticos dos Inibidores Teciduais de Metaloproteinasas (TIMP)-1 e -2 em Controles, Recuperados e com Artralgia Persistente. **A.** Avaliação dos níveis de TIMP-1 nos grupos Controle (N=24), Recuperados (N=35), Artralgia Persistente (N=67); **B.** Avaliação dos níveis de TIMP-2 nos grupos Controle (N=23), Recuperados (N=20), Artralgia Persistente (N=49). Foi considerado estatisticamente significativo quando $p \leq 0,05$.

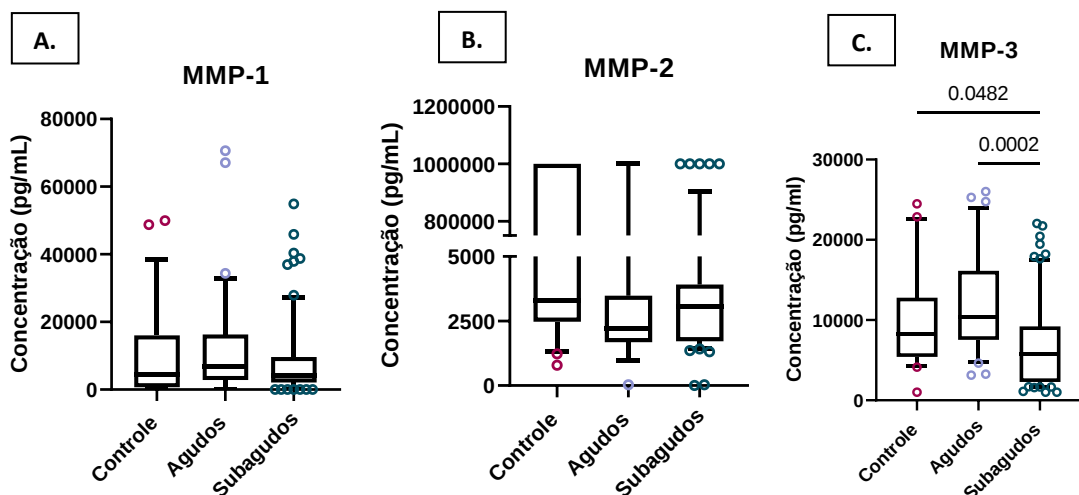
Fonte: o autor (2023).

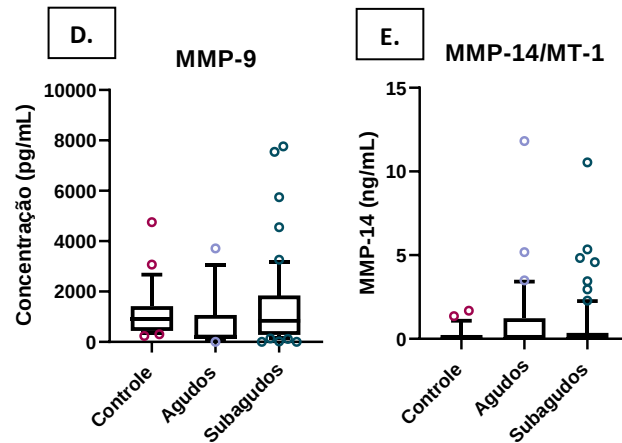
5.6 Avaliação dos níveis plasmáticos dos mediadores solúveis considerando as fases aguda e subaguda da CHIK

5.6.1 Níveis plasmáticos das MMPs e TIMPs entre os grupos controles, agudos e subagudos

A fim de verificar o comportamento das enzimas em relação aos diferentes momentos das fases da CHIK, foram analisados os níveis plasmáticos das MMPs entre os grupos Controle, Agudos e Subagudos (Figura 13).

Figura 13 - Avaliação dos níveis das MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1 entre os grupos Controle, Agudos e Subagudos.





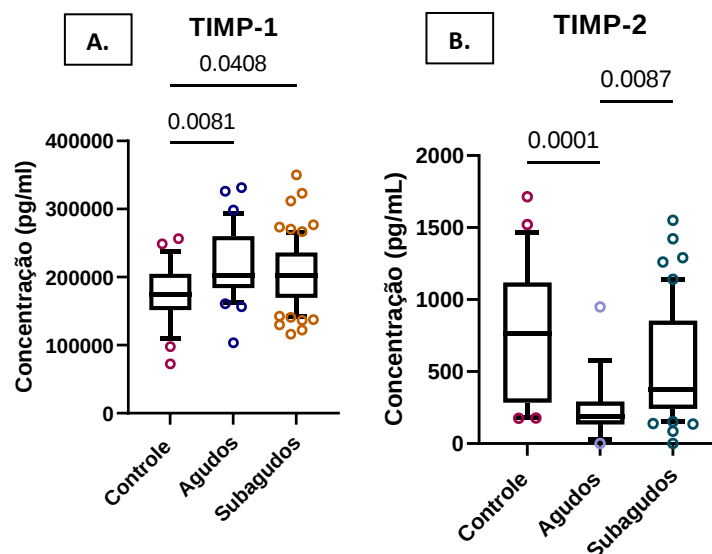
Legenda: Análise dos níveis plasmáticos de MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1 em relação as fases de recrutamento. **A.** MMP-1; **C.** MMP-3 **E.** MMP-14/MT-1 [Grupos controle (N=24), Agudos (N=31) e Subagudos (N=72)]. **B.** MMP-2; **D.** MMP-9 [Grupos controle (N=23), Agudos (N=19) e Subagudos (N=50)]. Foram considerados agudos aqueles com até 14 dias de sintomas e subagudos os que apresentaram sintomas entre 15 e 89 dias após o seu início. Apenas o MMP-3 apresentou significância entre os grupos. Os dados foram normalizados através do teste de Kolmogorov-Smirnov e analisados através do teste de Kruskal-wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunn, considerando $p < 0,05$.

Fonte: O autor (2023).

Foi possível observar que não houve diferença estatística dos níveis plasmáticos de MMP-1, MMP-2, MMP-9 e MMP-14 entre os indivíduos Agudos e Subagudos. Em relação aos níveis de MMP-3, o grupo de indivíduos na fase subaguda apresentou um menor nível plasmático de MMP-3 em relação aos controles ($p = 0,0482$) e à fase aguda ($p = 0,0002$).

Em relação aos níveis dos TIMPs, o TIMP-1 na fase aguda ($p=0,0408$) e subaguda ($p=0,0081$) foram mais elevados que no grupo controle. Adicionalmente, os níveis de TIMP-2 foram menores em participantes durante a fase aguda, quando comparados ao grupo controle ($p=0,0001$) e aos indivíduos na fase subaguda ($p=0,0087$) (Figura 14).

Figura 14 - Avaliação dos níveis plasmáticos de TIMP-1 e TIMP-2 nos grupos Controles, Agudos e Subagudos.



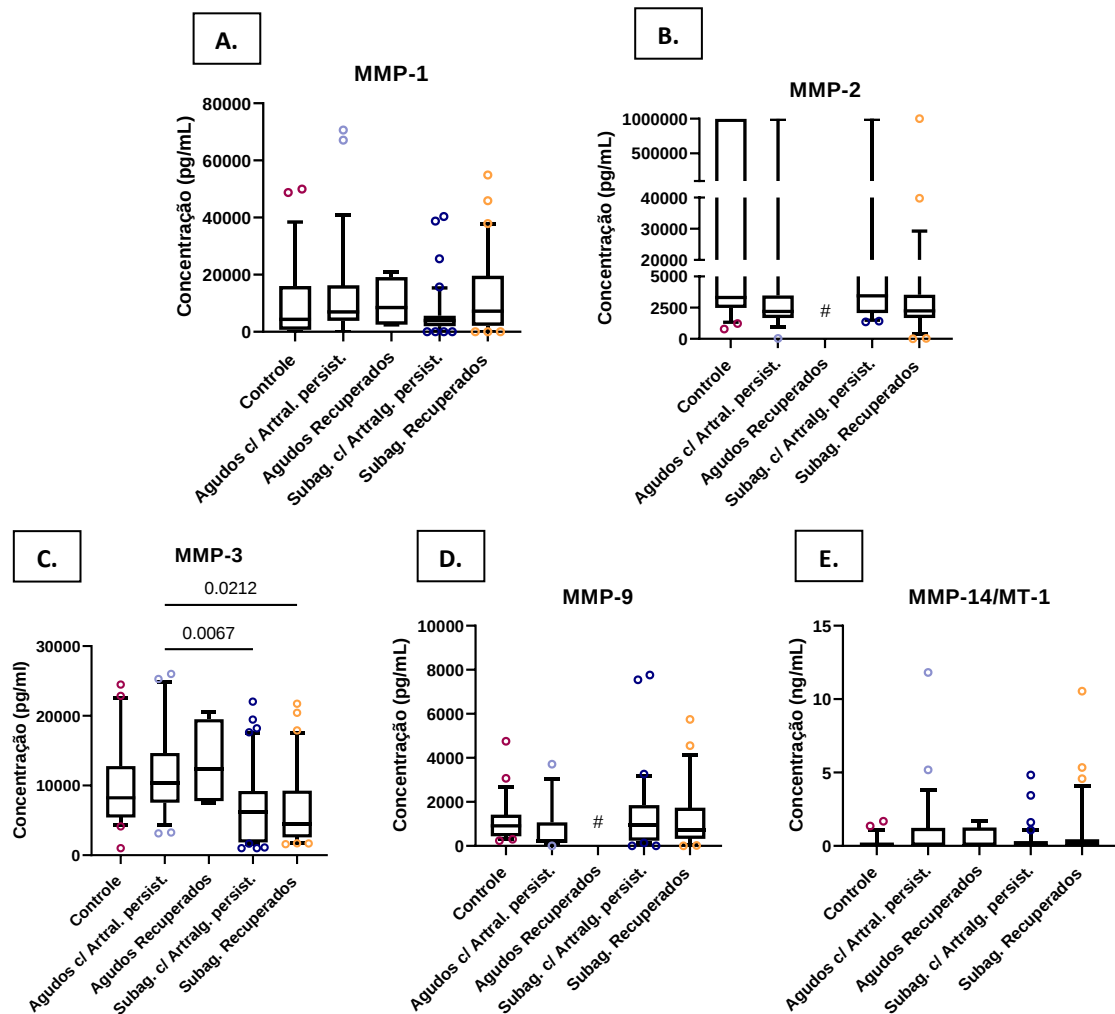
Legenda: Avaliação dos níveis plasmáticos dos TIMP-1 e TIMP-2 em relação as fases de recrutamento. **A.** TIMP-1 [Grupos controle (N=24), Agudos (N=31) e Subagudos (N=72)]. **B.** TIMP-2 [Grupos controle (N=23), Agudos (N=19) e Subagudos (N=50)]. Foram considerados agudos aqueles com até 14 dias de sintomas e subagudos os que apresentaram sintomas entre 15 e 89 dias após o seu início. Os dados foram normalizados através do teste de Kolmogorov-Smirnov e analisados através do teste de Kruskal-wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunn, considerando $p < 0,05$.

Fonte: O autor (2023).

5.6.2 Níveis plasmáticos das MMPs e TIMPs entre as fases e os diferentes desfechos clínicos dos participantes positivos para CHIK

Ao comparar os níveis plasmáticos dos mediadores solúveis entre as fases iniciais e os diferentes desfechos cronicidade e não foi possível observar diferença estatística das MMP-1, MMP-2, MMP-9 e MMP-14/MT-1. Em relação à MMP-3, foram observadas diferenças estatísticas significantes nos níveis desta metaloproteinases entre indivíduos durante a fase aguda e subaguda, ambos que evoluíram com artralgia persistente ($p=0,0067$). De forma semelhante, foi observado que os indivíduos durante a fase aguda com desfecho clínico de artralgia persistente apresentam maiores níveis de MMP-3, quando comparado com indivíduos durante a fase subaguda que se recuperaram ($p=0,0212$) (Figura 15).

Figura 15 - Avaliação das MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1 entre as fases de recrutamento e os diferentes desfechos clínicos.



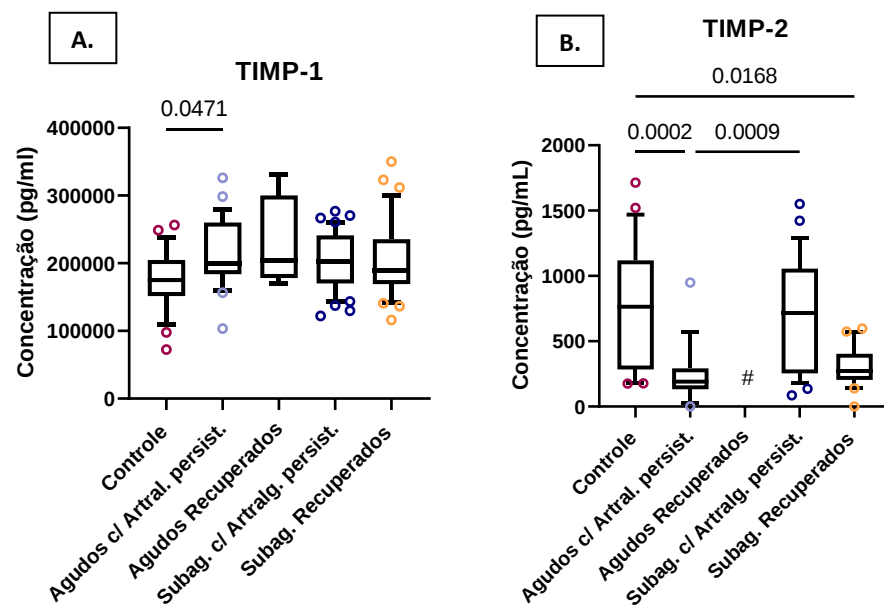
Legenda: Avaliação dos níveis plasmáticos de: **A.** MMP-1; **B.** MMP-2; **C.** MMP-3; **D.** MMP-9; **E.** MMP-14/MT-1 em relação as fases de recrutamento e os diferentes desfechos clínicos. Apenas o MMP-3 apresentou significância entre os grupos analisados. Os dados foram normalizados através do teste de Kolmogorov-Smirnov e analisados através do teste de Kruskal-wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunn, considerando $p < 0,05$.

Não foi possível a formação do *gated* para análise deste grupo.

Fonte: O autor (2023).

Em relação aos TIMPs, quando comparado com o grupo controle saudável, foi possível observar maiores níveis de TIMP-1 nos indivíduos na fase aguda que evoluíram com artralgia persistente ($p = 0,0471$) e menores níveis de TIMP-2 ($p = 0,002$). Os níveis de TIMP-2 também foram menores nos indivíduos durante a fase subaguda que se recuperaram ($p = 0,0168$). Houve diferenças estatísticas também entre agudos e subagudos dentro do grupo de artralgia persistente ($p = 0,0009$) (Figura 16).

Figura 16 Avaliação dos níveis plasmáticos do TIMP-1 e TIMP-2 entre as fases de recrutamento e os diferentes desfechos clínicos.



Legenda: Avaliação dos níveis plasmáticos de **A.** TIMP-1 e **B.** TIMP-2 em relação as fases de recrutamento e os diferentes desfechos clínicos. Os dados foram normalizados através do teste de Kolmogorov-Smirnov e analisados através do teste de Kruskal-wallis e o teste de múltiplas comparações de Dunn, considerando $p < 0,05$.

Não foi possível a formação do *gated* para análise deste grupo.

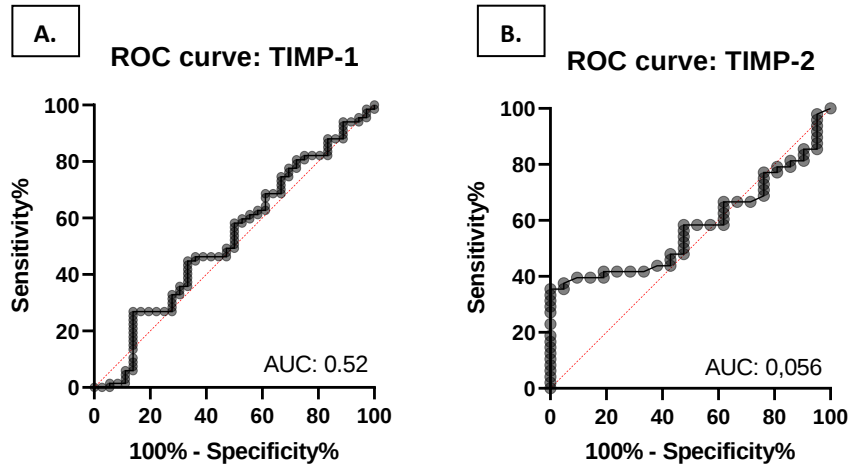
Fonte: O autor (2023).

5.7 Análise de acurácia dos inibidores de MMPs como indicadores de artralgia persistente na CHIK crônica

Com o objetivo de avaliar os parâmetros de acurácia dos TIMPs em distinguir indivíduos Recuperados dos indivíduos com Artralgia Persistente na fase crônica, foi realizado o teste de sensibilidade e especificidade de acordo com a AUC.

Os valores de AUC do TIMP-1 (AUC= 0.52; IC 0,4108 - 0,6489; sensibilidade: 26,87%; especificidade: 86,11%) e TIMP-2 (AUC= 0.57; IC 0,4431 - 0,7097; sensibilidade: 37,50%; especificidade: 95,24%) não foram considerados satisfatórios para a utilização como biomarcador prognóstico da artralgia persistente na fase crônica (Figura 17).

Figura 17 - Análise de Acurácia dos TIMPs para os grupos Recuperados e com Artralgia Persistente da fase crônica da CHIK.



Legenda: Curva Característica do Operador Receptor (ROC) para avaliação dos Inibidores Teciduais de Metaloproteinases -1 e -2 como biomarcador da Artralgia Persistente provocada pelo CHIKV. **A.** TIMP-1 (AUC= 0.52; IC 0,4108 - 0,6489; sensibilidade: 26,87%; especificidade: 86,11%); **B.** TIMP-2 (AUC= 0.57; IC 0,4431 - 0,7097; sensibilidade: 37,50%; especificidade: 95,24%). Os valores de AUC foram considerados: AUC > 0,9 excelente; 0,8-0,89 bom; 0,7-0,79 pobre; 0,6-0,79 ruim; 0,51-0,59 péssimo; e quando inferior a 0,5 não tem valor diagnóstico.

Fonte: o autor (2023).

6 DISCUSSÃO

A CHIK representa um grande problema de saúde pública devido à alta morbidade causada pela artralgia persistente que se manifesta em todas as fases clínicas da doença, trazendo prejuízos à saúde física e mental dos indivíduos acometidos e o incapacitando de desempenhar atividades cotidianas e laborais. Apesar disso, até o momento não existe nenhum biomarcador capaz de distinguir precocemente quais indivíduos poderão desenvolver artralgia persistente durante a fase crônica da CHIK. Nesse contexto, o presente estudo buscou avaliar as características clínicas associadas à persistência da artralgia e verificar se os níveis de MMPs e/ou TIMPs são bons candidatos a biomarcadores deste desfecho clínico.

A análise exploratória dos dados sociodemográficos dos participantes desse estudo corrobora achados de estudos anteriores, que identificaram que mulheres possuem maior chance de desenvolver artralgia persistente na fase crônica (Yodtaweepornanan; Pongsittisak; Satpanich, 2023). Esses dados se devem a fatores biológicos, pois a diferença hormonal entre os sexos influencia diretamente a percepção da dor, em especial mulheres com idade mais avançadas, em que há alteração no comportamento do sistema imunológico, também influenciado por mudanças hormonais (Roosenhoff; Anfasa; Martina, 2016; Silva *et al.*, 2021).

Com relação as comorbidades encontradas entre os participantes do estudo, a hipertensão (30,9%) e a doença reumatológica prévia (29,4%) foram as mais frequentes dentre aqueles que apresentaram sintomas na fase crônica da CHIK. Apesar de não ter sido encontrada associação com a artralgia persistente, outros estudos demonstram que pacientes que a pré-existência dessas comorbidades no momento agudo da infecção aumentam as chances de ter um pior prognóstico da doença (De Moraes *et al.*, 2020; Van Aalst *et al.*, 2017).

Com relação ao espectro clínico, a artralgia, febre, *rash* cutâneo, edema, cefaleia e a rigidez matinal foram as principais manifestações clínicas nas fases agudas e subagudas que ocorreram entre os indivíduos da população crônica. Esses sintomas também são relatados em outros estudos de coorte como Lázari *et al.*, 2023 e Silva *et al.*, 2021. De modo semelhante, estudo de Huits *et al.*, 2018 e Thiberville *et al.*, 2013 demonstraram a alta predominância desses sintomas nas fases iniciais da CHIK, tendo a permanência principalmente da artralgia na fase crônica, no entanto, taxa da artralgia persistente varia de 13 a 70% entre os estudos, e podem persistir até 60 meses após o início da infecção (Arroyo-Ávila; Vilá, 2015; Dupuis-Maguiraga *et al.*, 2012; O'Driscoll *et al.*, 2021).

Os sintomas articulares na fase crônica causados pelo CHIKV são similares aos provocados por outros Alphavirus artritogênicos, que promovem a ativação dos macrófagos induzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e enzimas envolvidas no dano articular (Bartholomeeusen, K. *et al.* 2023). O aumento da liberação de mediadores inflamatórios, incluindo IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-15 e TNF- α , induz a expressão de enzimas proteolíticas, como MMPs, resultando na degradação da cartilagem (Cabral-Pacheco *et al.*, 2020).

Os resultados encontrados no presente estudo, revelaram não haver níveis plasmáticos distintos entre MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e MMP-14/MT-1, entre pacientes com CHIK e indivíduos saudáveis. Esses resultados vão de encontro ao estudo de Ninla-Aesong *et al.*, 2019, em que foi possível observar uma diferença estatística nos níveis sorológicos de MMP-1 e MMP-3 entre os grupos de indivíduos recuperados e com artralgia persistente provocados pela CHIK. Esta discrepância pode ser decorrente das diferenças genéticas da população estudada ou de diferenças na genética viral que podem refletir no perfil das manifestações clínicas.

Ainda, os níveis de MMPs e TIMPs podem sofrer influência de regulação epigenética, como a alteração do perfil de metilação do DNA, presentes na interface patógeno-hospedeiro (Aguilar *et al.*, 2019). Contudo, vale ressaltar que estudos demonstram o envolvimento das MMPs em doenças como carácter artritogênicas com manifestações clínicas semelhantes à CHIK, como a AR e OA (He *et al.*, 2020; Menou; Duitman; Crestani, 2018).

Para além da função regulatória das MMPs (Alamgeer *et al.*, 2020), os TIMPs também podem agir como moléculas sinalizadoras, por meio da ligação direta com os receptores de superfície para induzir a resposta celular, atuando como citocinas em atividades como: modulação da proliferação celular, apoptose, diferenciação e angiogênese (Arpino; Brock; Gill, 2015; Lambert *et al.*, 2004). Essas outras funções explicam por que este inibidor está aumentado em doenças inflamatórias, como identificado no presente estudo.

Maiores níveis plasmáticos de TIMP-1, no grupo de pacientes recrutados na fase aguda e que possuem em seu desfecho persistência da artralgia, corrobora com o argumento apresentado por Scoeps *et al.*, 2023. Este estudo afirma que este inibidor é específico da fase aguda e os seus maiores níveis são associados a um pior prognóstico de doenças inflamatórias como osteoartrite e artrite psoriática. Essas observações só confirmam a sua função de citocina pró-inflamatória, como é sugerido pelo mesmo autor. Além disso, a expressão de TIMP-1 é regulada principalmente por fatores de crescimento e citocinas, como IL-6, IL-1 e IL-1 β , que são marcadores de cronicidade da CHIK descritos na literatura (Silva Ferreira *et al.*, 2021). Em

contrapartida, a razão pelos níveis diminuídos de TIMP-2 necessita de maior exploração, visto que a produção de TIMP-2 é constitutiva.

Além disso, especula-se que o plasma, apesar de ser um insumo biológico de mais fácil acesso na prática clínica, as análises de líquido sinovial poderiam fornecer uma investigação mais aprofundada da remodelação e degradação das proteínas da MEC da cartilagem, conforme destacado no estudo de Giannelli *et al.*, 2004. Nesse contexto, a principal limitação do presente estudo pode ter sido o tipo de amostra analisada.

As descobertas sobre as alterações nos níveis de TIMP-1 e TIMP-2 nas diferentes fases da CHIK podem contribuir para a compreensão dos mecanismos envolvidos na artralgia persistente. Isso pode abrir caminho para novas pesquisas sobre a fisiopatologia da doença e possíveis alvos terapêuticos. Ainda, estes resultados podem servir como base para estudos futuros, investigando mais profundamente os papéis específicos de TIMP-1 e TIMP-2 na patogênese da CHIK e na persistência da artralgia.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos é possível concluir que as variações nos níveis plasmáticos de TIMP-1 e TIMP-2 estão envolvidas no acometimento articular decorrente da CHIK e que, os mediadores solúveis MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-14/MT-1, TIMP-1 e TIMP-2 não possuem sensibilidade e especificidade para ser utilizado como biomarcador da artralgia persistente na doença crônica. Ainda em tempo, não foi observada relação com as manifestações clínicas avaliadas.

REFERÊNCIAS

- ALAMGEER et al. Phytochemicals targeting matrix metalloproteinases regulating tissue degradation in inflammation and rheumatoid arthritis. **Phytomedicine**, v. 66, p. 153134, jan. 2020.
- AN, W. et al. Recent progress on chikungunya virus research. **Virologica Sinica**, v. 32, n. 6, p. 441–453, 28 dez. 2017.
- ARPINO, V.; BROCK, M.; GILL, S. E. **The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis**. Matrix Biology Elsevier B.V. 1 maio 2015.
- ARROYO-ÁVILA, M.; VILÁ, L. M. Rheumatic Manifestations in Patients with chikungunya Infection. **Puerto Rico health sciences journal**, v. 34, n. 2, p. 71–7, jun. 2015.
- ASSUNÇÃO-MIRANDA, I.; BOZZA, M. T.; DA POIAN, A. T. Pro-inflammatory response resulting from sindbis virus infection of human macrophages: Implications for the pathogenesis of viral arthritis. **Journal of Medical Virology**, v. 82, n. 1, p. 164–174, jan. 2010.
- BARKER, H. E. et al. LOXL2-Mediated Matrix Remodeling in Metastasis and Mammary Gland Involution. **Cancer Research**, v. 71, n. 5, p. 1561–1572, 1 mar. 2011.
- BARTHOLOMEEUSEN, K. et al. chikungunya fever. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 9, n. 1, p. 17, 6 abr. 2023.
- BARTHOLOMEUSZ, A.; LOCARNINI, S. Associated With Antiviral Therapy. **Antiviral Therapy**, v. 55, n. November 2005, p. 52–55, 2006.
- BATTISTI, V.; URBAN, E.; LANGER, T. Antivirals against the chikungunya Virus. **Viruses**, v. 13, n. 7, p. 1307, 5 jul. 2021.
- BORGHERINI, G. et al. Outbreak of chikungunya on Reunion Island: Early Clinical and Laboratory Features in 157 Adult Patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, n. 11, p. 1401–1407, 1 jun. 2007.
- BRASIL. **chikungunya: Manejo Clínico** (Ministério da Saúde, Ed.) **Ministério da Saúde**. Brasília: [s.n.]. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/chikungunya_manejo_clinico_1ed.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2023.
- BRASIL. **Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes Aegypti (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 50, 2020**. Brasília: [s.n.].
- BRASIL. **Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito Aedes (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 51, 2021**. 31 dez. 2021.
- BURT, F. J. et al. chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 4, p. e107–e117, 2017.

- CABRAL-PACHECO, G. A. et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 24, p. 1–53, 2020.
- CAVALCANTI, T. Y. V. DE L. et al. A Review on chikungunya Virus Epidemiology, Pathogenesis and Current Vaccine Development. **Viruses**, v. 14, n. 5, p. 969, 5 maio 2022.
- CHOW, A. et al. Persistent arthralgia induced by chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. **Journal of Infectious Diseases**, v. 203, n. 2, p. 149–157, 2011.
- CUI, N.; HU, M.; KHALIL, R. A. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. Em: **Progress in Molecular Biology and Translational Science**. [s.l.] Elsevier B.V., 2017. v. 147p. 1–73.
- DA SILVA DUARTE, G. et al. Multicenter study of the natural history and therapeutic responses of patients with chikungunya, focusing on acute and chronic musculoskeletal manifestations – a study protocol from the clinical and applied research in chikungunya (REPLICK network). **BMC Infectious Diseases**, v. 23, n. 1, p. 499, 28 jul. 2023.
- DASH, M.; MOHANTY, I.; PADHI, S. Laboratory diagnosis of chikungunya virus: Do we really need it? **Indian Journal of Medical Sciences**, v. 65, n. 3, p. 83, 2011.
- DE LIMA CAVALCANTI, T. Y. V. et al. A Review on chikungunya Virus Epidemiology, Pathogenesis and Current Vaccine Development. **Viruses**, v. 14, n. 5, p. 969, 5 maio 2022.
- DECOUX, A. et al. Myocardial matrix metalloproteinase-2: inside out and upside down. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 77, p. 64–72, dez. 2014.
- DUPUIS-MAGUIRAGA, L. et al. chikungunya Disease: Infection-Associated Markers from the Acute to the Chronic Phase of Arbovirus-Induced Arthralgia. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 3, p. e1446, 27 mar. 2012.
- ERIN STAPLES, J.; BREIMAN, R. F.; POWERS, A. M. chikungunya fever: An epidemiological review of a re-emerging infectious disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 6, p. 942–948, 2009.
- GANESAN, V. K.; DUAN, B.; REID, S. P. chikungunya virus: Pathophysiology, mechanism, and modeling. **Viruses**, v. 9, n. 12, p. 1–14, 2017.
- GÉRARDIN, P. et al. Perceived morbidity and community burden after a chikungunya outbreak: the TELECHIK survey, a population-based cohort study. **BMC Medicine**, v. 9, n. 1, p. 5, 14 dez. 2011.
- GIANNELLI, G. et al. MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 levels in patients with rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis **BRIEFPAPER Clinical and Experimental Rheumatology**. [s.l.: s.n.].
- GÓMEZ, M. et al. Aedes aegypti and Ae. albopictus microbiome/virome: new strategies for controlling arboviral transmission? **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, p. 287, 9 ago. 2022.

GROSS, J.; LAPIERE, C. M. COLLAGENOLYTIC ACTIVITY IN AMPHIBIAN TISSUES: A TISSUE CULTURE ASSAY. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 48, n. 6, p. 1014–1022, jun. 1962.

GUARALDO, L. et al. Treatment of chikungunya musculoskeletal disorders: a systematic review. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 16, n. 4, p. 333–344, 3 abr. 2018.

HALLER, J. M. et al. Intraarticular Matrix Metalloproteinases and Aggrecan Degradation Are Elevated After Articular Fracture. **Clinical Orthopaedics and Related Research®**, v. 473, n. 10, p. 3280–3288, 11 out. 2015.

HE, J. et al. Epigenetic regulation of matrix metalloproteinases in inflammatory diseases: a narrative review. **Cell & Bioscience**, v. 10, n. 1, p. 86, 18 dez. 2020.

HERD, C. S. et al. Identification of the extracellular metallo-endopeptidases ADAM and ADAMTS in the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 148, p. 103815, set. 2022.

HORWOOD, P. F.; BUCHY, P. chikungunya . **Revue Scientifique et Technique de l'OIE**, v. 34, n. 2, p. 479–489, 1 ago. 2015.

HOUK, E. J. et al. Western equine encephalomyelitis virus: In vivo infection and morphogenesis in mosquito mesenteron epithelial cells. **Virus Research**, v. 2, n. 2, p. 123–138, mar. 1985.

HUITS, R. et al. chikungunya virus infection in Aruba: Diagnosis, clinical features and predictors of post-chikungunya chronic polyarthralgia. **PLOS ONE**, v. 13, n. 4, p. e0196630, 30 abr. 2018.

ISHIGURO, N. et al. Relationship of matrix metalloproteinases and their inhibitors to cartilage proteoglycan and collagen turnover: Analyses of synovial fluid from patients with osteoarthritis. **Arthritis & Rheumatism**, v. 42, n. 1, p. 129–136, jan. 1999.

JACKSON, H. W. et al. **TIMPs: Versatile extracellular regulators in cancer**. **Nature Reviews Cancer** Nature Publishing Group, , 1 jan. 2017.

KAM, Y. W. et al. Immuno-biology of chikungunya and implications for disease intervention. **Microbes and Infection**, v. 11, n. 14–15, p. 1186–1196, 2009.

KAPOOR, C. et al. Seesaw of matrix metalloproteinases (MMPs). **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 12, n. 1, p. 28, 2016.

KHOKHA, R.; MURTHY, A.; WEISS, A. Metalloproteinases and their natural inhibitors in inflammation and immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 13, n. 9, p. 649–665, 23 set. 2013.

KRAEMER, M. U. G. et al. Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 5, p. 854–863, 4 mar. 2019.

KRAMER, L. D.; CIOTA, A. T. Dissecting vectorial capacity for mosquito-borne viruses. **Current Opinion in Virology**, v. 15, p. 112–118, dez. 2015.

- KWAN, J. A. et al. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) is present in the nucleus of cardiac myocytes and is capable of cleaving poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) in vitro. **The FASEB Journal**, v. 18, n. 6, p. 690–692, 6 abr. 2004.
- LAMBERT, E. et al. TIMPs as multifacial proteins. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 49, n. 3, p. 187–198, mar. 2004.
- LÁZARI, C. DOS S. et al. Clinical markers of post-chikungunya chronic inflammatory joint disease: A Brazilian cohort. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 17, n. 1, p. e0011037, 6 jan. 2023.
- LETA, S. et al. Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 67, p. 25–35, fev. 2018.
- LI, Q. et al. Matrilysin Shedding of Syndecan-1 Regulates Chemokine Mobilization and Transepithelial Efflux of Neutrophils in Acute Lung Injury. **Cell**, v. 111, n. 5, p. 635–646, nov. 2002.
- LI, R. L. et al. **Targeting matrix metalloproteases: A promising strategy for herbal medicines to treat rheumatoid arthritis.** *Frontiers in Immunology* Frontiers Media S.A., , 9 nov. 2022.
- LIMB, G. A. et al. Matrix Metalloproteinase-1 Associates with Intracellular Organelles and Confers Resistance to Lamin A/C Degradation during Apoptosis. **The American Journal of Pathology**, v. 166, n. 5, p. 1555–1563, maio 2005.
- LUO, D. et al. Alternative Splicing and Promoter Usage Generates an Intracellular Stromelysin 3 Isoform Directly Translated as an Active Matrix Metalloproteinase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 28, p. 25527–25536, jul. 2002.
- MACPHERSON, C. et al. Clinical and serological insights from the asian lineage chikungunya outbreak in Grenada, 2014: An observational study. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 4, p. 890–893, 2016.
- MARQUES, C. D. L. et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da febre chikungunya . Parte 1 – Diagnóstico e situações especiais. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 57, n. S 2, p. 421–437, 2017a.
- MARQUES, C. D. L. et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da febre chikungunya . Parte 2 – Tratamento. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 57, p. 438–451, 2017b.
- MCCAWLEY, L. J.; MATRISIAN, L. M. Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! **Current Opinion in Cell Biology**, v. 13, n. 5, p. 534–540, out. 2001.
- MCQUIBBAN, G. A. et al. Inflammation Dampened by Gelatinase A Cleavage of Monocyte Chemoattractant Protein-3. **Science**, v. 289, n. 5482, p. 1202–1206, 18 ago. 2000.
- MENOU, A.; DUITMAN, J.; CRESTANI, B. The impaired proteases and anti-proteases balance in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. **Matrix Biology**, v. 68–69, p. 382–403, ago. 2018.
- MOWATT, L.; JACKSON, S. T. chikungunya in the Caribbean: An Epidemic in the Making. **Infectious Diseases and Therapy**, v. 3, n. 2, p. 63–68, 2014.

- MURPHY, G.; NAGASE, H. Reappraising metalloproteinases in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: Destruction or repair? **Nature Clinical Practice Rheumatology**, v. 4, n. 3, p. 128–135, 2008.
- NAGASE, H.; VISSE, R.; MURPHY, G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. **Cardiovascular Research**, v. 69, n. 3, p. 562–573, 15 fev. 2006.
- NEUHOLD, L. A. et al. Postnatal expression in hyaline cartilage of constitutively active human collagenase-3 (MMP-13) induces osteoarthritis in mice. **Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 1, p. 35–44, 1 jan. 2001.
- NGUYEN, L. T. et al. Review of prospects of biological fluid biomarkers in osteoarthritis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 3, 2017.
- NINLA-AESONG, P.; MITARNUN, W.; NOIPHA, K. Proinflammatory Cytokines and Chemokines as Biomarkers of Persistent Arthralgia and Severe Disease after chikungunya Virus Infection: A 5-Year Follow-Up Study in Southern Thailand. **Viral Immunology**, v. 32, n. 10, p. 442–452, 2019.
- O'DRISCOLL, M. et al. Arthralgia resolution rate following chikungunya virus infection. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 112, p. 1–7, nov. 2021.
- OJEDA RODRIGUEZ, J. A.; HAFTTEL, A.; WALKER, III, J. R. **chikungunya Fever**. [s.l.] StatPearls Publishing, 2023.
- PARKS, W. C.; WILSON, C. L.; LÓPEZ-BOADO, Y. S. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, n. 8, p. 617–629, ago. 2004.
- PEPER, S. M. et al. That Which Bends Up: A Case Report and Literature Review of chikungunya Virus. **Journal of General Internal Medicine**, v. 31, n. 5, p. 576–581, 2016.
- RIES, C. Cytokine functions of TIMP-1. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 71, n. 4, p. 659–672, 28 fev. 2014.
- RODRIGUEZ-MORALES, A. J. et al. Post-chikungunya chronic inflammatory rheumatism: results from a retrospective follow-up study of 283 adult and child cases in La Virginia, Risaralda, Colombia. **F1000Research**, v. 5, p. 360, 4 abr. 2016.
- ROOSENHOFF, R.; ANFASA, F.; MARTINA, B. The pathogenesis of chronic chikungunya : evolving concepts. **Future Virology**, v. 11, n. 1, p. 61–77, jan. 2016.
- RYAN, S. J. et al. Global expansion and redistribution of Aedes-borne virus transmission risk with climate change. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 3, p. e0007213, 28 mar. 2019.
- SÁNCHEZ, J. S.; CAÑÓN, A. M.; LOMBO, J. C. Síntomas subagudos y crónicos de la fiebre de chikungunya en un grupo de personas adultas en Ibagué, Colombia. **Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud**, v. 39, n. 3, p. 587–594, 2019.
- SCHILTE, C. et al. Cutting Edge: Independent Roles for IRF-3 and IRF-7 in Hematopoietic and Nonhematopoietic Cells during Host Response to chikungunya Infection. **The Journal of Immunology**, v. 188, n. 7, p. 2967–2971, 2012.

SCHOEPS, B.; FRÄDRICH, J.; KRÜGER, A. Cut loose TIMP-1: an emerging cytokine in inflammation. **Trends in Cell Biology**, v. 33, n. 5, p. 413–426, maio 2023.

SILVA, M. M. O. et al. Risk of chronic arthralgia and impact of pain on daily activities in a cohort of patients with chikungunya virus infection from Brazil. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 105, p. 608–616, abr. 2021.

SIMON, F. et al. chikungunya Infection. **Medicine**, v. 86, n. 3, p. 123–137, 2007.

SES-PE, Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco -. **Hospitais e UPAs lançam campanha de alerta sobre arboviroses em Pernambuco**. 2021. Disponível em: <http://portal.saude.pe.gov.br/noticias/secretaria-executiva-de-atencao-saude/hospitais-e-upas-lancam-campanha-de-alerta-sobre>. Acesso em: 11 abr. 2023.

SOURISSEAU, M. et al. Characterization of reemerging chikungunya virus. **PLoS Pathogens**, v. 3, n. 6, p. 0804–0817, 2007.

SUTARIA, R. B.; AMARAL, J. K.; SCHOEN, R. T. Emergence and treatment of chikungunya arthritis. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 30, n. 3, p. 256–263, 2018.

THIBERVILLE, S.-D. et al. chikungunya fever: Epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. **Antiviral Research**, v. 99, n. 3, p. 345–370, set. 2013.

TOCCHI, A.; PARKS, W. C. Functional interactions between matrix metalloproteinases and glycosaminoglycans. **The FEBS Journal**, v. 280, n. 10, p. 2332–2341, 8 maio 2013.

TOKITO, A.; JOUGASAKI, M. Matrix Metalloproteinases in Non-Neoplastic Disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 7, p. 1178, 21 jul. 2016.

UEMURA, S. et al. Diabetes Mellitus Enhances Vascular Matrix Metalloproteinase Activity. **Circulation Research**, v. 88, n. 12, p. 1291–1298, 22 jun. 2001.

VAN AALST, M. et al. Long-term sequelae of chikungunya virus disease: A systematic review. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 15, p. 8–22, jan. 2017.

VAN DEN STEEN, P. E. et al. Neutrophil gelatinase B potentiates interleukin-8 tenfold by aminoterminal processing, whereas it degrades CTAP-III, PF-4, and GRO-alpha and leaves RANTES and MCP-2 intact. **Blood**, v. 96, n. 8, p. 2673–81, 15 out. 2000.

VANCINI, R. et al. Flavivirus infection from mosquitoes in vitro reveals cell entry at the plasma membrane. **Virology**, v. 435, n. 2, p. 406–414, jan. 2013.

YODTAWEEPORNANAN, P.; PONGSITTISAK, W.; SATPANICH, P. Incidence and factors associated with chronic chikungunya arthritis following chikungunya virus infection. **Tropical Medicine & International Health**, v. 28, n. 8, p. 653–659, 16 ago. 2023.

ZAMARINA, T. V. et al. Current state of chikungunya fever laboratory diagnosis (review of literature). **Russian Clinical Laboratory Diagnostics**, v. 66, n. 9, p. 558–564, 10 set. 2021.

ANEXOS

ANEXO 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
SERVIÇO DE REUMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA

Título da pesquisa: Estudo Multicêntrico da História Natural e Resposta Terapêutica de Chikungunya com foco nas Manifestações Musculoesqueléticas Agudas e Crônicas

Financiador: Agência de Fomento - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ)

Pesquisador proponente: André Machado de Siqueira

Pesquisador Principal: Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo

Participante da Pesquisa

Nome: _____

Documento de identidade: _____ **Sexo:** () M () F

Data de nascimento: ____ / ____ / ____

Endereço: _____

Cidade: _____ **Estado:** _____

Telefone: () _____

Testemunha Imparcial (se aplicável):

Nome: _____

Documento de identidade: _____ **Sexo:** () M () F

Data de nascimento: ____ / ____ / ____

Endereço: _____

Cidade: _____ **Estado:** _____

Telefone: () _____

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):



Este é um convite para que você participe de um protocolo de pesquisa sobre a doença Chikungunya. Este documento, chamado termo de consentimento livre e esclarecido, explica esta pesquisa em detalhes, mas pode conter palavras que você não compreenda. Por favor, peça ao médico ou a outra pessoa da equipe do estudo para lhe explicar o que significa qualquer palavra ou informação que você não entenda. Antes de assinar, você pode levar para casa uma cópia deste documento para pensar a respeito ou conversar com sua família e/ou amigos antes de tomar sua decisão.

OBJETIVOS DO ESTUDO

Gostaríamos de convidar você a participar da pesquisa que irá estudar a história natural da doença Chikungunya e a resposta ao tratamento da doença. Trata-se de um estudo observacional e você não precisará utilizar nenhum medicamento, além dos já utilizados atualmente para o tratamento da doença.

A Chikungunya é uma doença transmitida pela picada do mosquito *Aedes aegypti* contaminado pelo vírus. O quadro clínico é muito semelhante à febre do dengue, com início súbito de febre alta, dor de cabeça, dores nas articulações, dores musculares, manchas vermelhas, enjoo e cansaço. A característica principal da febre Chikungunya é a presença de dores nas articulações em diversas partes do corpo que causa importante limitação física, diminuindo de forma significativa a qualidade de vida dos pacientes acometidos.

Neste estudo, você será avaliado em algumas visitas por uma equipe de saúde. A equipe é composta por médicos (clínicos gerais, infectologistas e reumatologistas), enfermeiros e farmacêuticos que registrarão dados sobre sua vida e o local que você mora, sintomas, atividades, além de informações referentes ao uso de medicamentos e outras formas de tratamento. Caso você apresente dores nos músculos e/ou nas articulações, estas dores serão avaliadas e acompanhadas por reumatologista.

QUEM NÃO PODE PARTICIPAR DO ESTUDO?

Existem algumas condições que podem impossibilitar a sua participação neste estudo, são elas:

- Se você tiver com outra doença febril aguda (febre alta causada por Malária, por exemplo)
- Se você tiver com outra doença que cause febre (por exemplo, celulite e abscesso);
- Se você estiver grávida ou amamentando e;
- Se você tiver algum problema que não permita a coleta de informações por distúrbios de comunicação ou falta de fluência na língua portuguesa ou outro idioma compreendido pelo médico assistente.

Mas não se preocupe, um médico conversará com você e fará uma avaliação para checar estas e outras condições que possam impedir sua participação e você não deixará de ser atendido mesmo que não entre no estudo.

COMO SERÁ SUA PARTICIPAÇÃO NESTE ESTUDO?

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):



Você deverá comparecer às **VISITAS** no centro de saúde responsável pelo estudo, e também poderá receber acompanhamento da equipe do estudo através de **CONTATOS por meio eletrônico, telefônico ou pessoal**.

Visitas programadas para consulta médica

Após a assinatura deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você passará por uma avaliação de saúde com um médico e se não houver nenhuma condição que impeça sua participação, será feita coleta de informações, coleta de saliva, sangue, de urina e, se necessário, de líquido sinovial (um líquido retirado da articulação ou do tendão) e/ou biópsia articular (um pedaço de tecido). Todos os exames são feitos para que possamos verificar como está sua saúde.

- **Coleta de Saliva:** a saliva será coletada por você mesmo com auxílio de um kit não invasivo, no qual você esfregará uma esponjinha (parecida com cotonete) no interior da boca, gengiva e/ou dentes.
- **Coleta de Sangue:** o sangue será coletado por um profissional qualificado. A quantidade de sangue total retirada será de 26mL (aproximadamente igual à quantidade de 2 colheres de sopa cheias).
- **Coleta de Urina:** a coleta será realizada por você mesmo em um pote entregue pelo médico do estudo. O volume total de urina coletada será de 60mL (aproximadamente 4 colheres de sopa).
- **Coleta de Líquido Sinovial:** o líquido sinovial poderá ser coletado por um profissional qualificado em situações em que se constate por exame físico ou exame de imagem (exemplo: ultrassonografia e ressonância magnética) a presença de líquido na articulação ou quando for indicado por avaliação médica a realização de infiltração de medicamento intra-articular como forma de reduzir a dor local. O volume total de 2mL (aproximadamente igual à quantidade de ½ colher de chá) será coletado nesses casos.

Na consulta, o médico irá realizar a avaliação e exame físico, incluindo alterações musculoesqueléticas, além da coleta de informações sobre sua vida, onde você mora e de história de doença anterior. O médico solicitará exames para que o diagnóstico da doença seja corretamente definido.

Você será informado de qualquer resultado que possa afetar sua saúde e receberá encaminhamento para avaliação médica especializada, se for necessário.

Após a aceitação em participar do estudo, você será acompanhado por até três anos, em consultas programadas com periodicidade semanal até 21 dias do início dos sintomas, bimensalmente (ou seja, a cada 2 meses) até 360 dias (1 ano) desde o início do acompanhamento e após, a cada 3 meses se houver a persistência dos sintomas. Em todas as consultas programadas o médico realizará avaliação e exame físico e coletará informações relacionadas a sua saúde para acompanhamento, além das coletas citadas anteriormente. O médico também solicitará exames de acordo com a necessidade do caso clínico.

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):



DESCONFORTO E RISCOS ESPERADOS

Por ser tratar de um método simples, rápido e não invasivo, a coleta de saliva não provoca nenhum desconforto ou dor.

No local da coleta de sangue pode ficar roxo e/ou dolorido. Às vezes é necessário realizar mais de uma tentativa para coletar sangue. Desmaio ou infecção no local da coleta pode ocorrer, mas é raro. Para diminuir esses riscos, assim como preconizado, a coleta de sangue sempre será realizada com material descartável por alguém treinado e experiente.

A coleta do xixi é um procedimento que de forma geral é fácil e não causa maior risco, de modo que você vai fazer num potinho. Se você não entender o que está sendo explicado ou ficar com vergonha de fazer xixi no hospital você pode falar com a equipe do estudo que vai tirar as suas dúvidas e vai ajudar você a encontrar um local mais confortável para a coleta.

A coleta do líquido sinovial, quando necessária, é realizada de forma minimamente invasiva, mas pode provocar desconforto tolerável. Assim como a coleta de sangue, para diminuir esses riscos, este procedimento será realizado em condições estéreis e por profissional experiente e treinado.

Caso necessário, o médico do estudo pode solicitar a realização de exames de radiografia e/ou ultrassonografia. Os principais riscos associados com radiografia são a pequena possibilidade de desenvolver, em alguma época posterior da vida, catarata ou câncer induzidos por radiação. Esses riscos são minimizados utilizando-se a proteção de chumbo adequada na hora da realização do exame e essa possibilidade é quase nula no caso do estudo, pois você será exposto apenas uma vez a esse exame. Por utilizar ondas sonoras de baixa potência, a ultrassonografia não apresenta grandes riscos conhecidos para a saúde.

BENEFÍCIOS PARA O PARTICIPANTE

Você não terá nenhum benefício direto por fazer parte deste estudo. Você terá acesso a avaliações médicas e aos laudos dos testes de laboratório sem custo. A sua participação nesta pesquisa pode trazer benefícios para você e para outras pessoas com a mesma doença, pois vai nos ajudar a saber mais sobre como diagnosticar melhor a doença Chikungunya no futuro. Além disso, se você participar poderá receber testes adicionais, além dos que já são realizados de rotina para investigar melhor a sua febre.

Não há nenhum custo para você participar do estudo. Os exames e procedimentos realizados exclusivamente com fins de pesquisa não implicarão qualquer custo para você. Para custear o deslocamento das visitas que serão feitas durante o estudo, você receberá um ressarcimento pelos gastos relacionados à sua participação, como alimentação e transporte.

BIORREPOSITÓRIO

Todas as amostras coletadas (saliva, sangue, xixi e líquido sinovial) serão guardadas durante todo o tempo dessa pesquisa em local próprio chamado de Biorrepositório. Existem várias regras e normas nacionais para o biorrepositório funcionar e nos comprometemos a seguir todas elas. Este biorrepositório

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):



será gerenciado pelo **Laboratório de Doenças Febris Agudas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, localizado na Av. Brasil, 4365 – Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, CEP 21040-900, telefone (21) 3865-9164**. Os dados coletados nesta pesquisa através de questionários ficarão armazenados em computador pessoal e arquivo físico, sob a responsabilidade do Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo no endereço Av. Prof. Moraes Rego S/N - Cidade Universitária, CEP: 50.670-901 Recife – PE, pelo período de mínimo 5 anos.

O material biológico (saliva, sangue, urina, líquido sinovial e biópsia articular, quando coletado) armazenado neste biorrepositório continuará sendo seu, permanecendo, entretanto, sob responsabilidade da instituição. Assim, você pode retirar o consentimento de armazenamento das amostras a qualquer tempo, sem nenhum problema. Para isso, você deverá assinar um documento dizendo isso. A desistência passa a valer a partir desta data e nós destruiremos suas amostras. Você pode desistir de participar do estudo (não querer mais fazer as consultas e/ou receber as ligações telefônicas pelo protocolo) e manter suas amostras armazenadas para o estudo e/ou para estudos futuros, sem nenhum prejuízo a você.

USO DO MATERIAL COLETADO, DADOS E CONFIDENCIALIDADE

Ao assinar este termo de consentimento, você permite ao médico do estudo e à equipe de pesquisa usar informações sobre seu prontuário médico para os objetivos do presente estudo. As enfermeiras e o pessoal médico envolvido no seu cuidado saberão se você participa ou não do estudo.

Ninguém mais saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos para outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Algumas informações sobre você (exemplos: onde você nasceu, qual sua raça, idade, sexo, entre outras) e sobre sua saúde serão anotadas pelo médico nas suas consultas, e ficarão guardadas em um sistema de dados. Ninguém saberá quem é você porque usaremos códigos no lugar do seu nome. Os resultados desta pesquisa vão sair em revistas científicas, mas não vamos dizer quem foram as pessoas que participaram. Todo material coletado será mantido em local seguro. Não vamos colocar o seu nome nos tubinhos que vão ser guardados, vamos colocar números, assim podemos guardar as amostras sem identificar você.

Esse estudo tem uma duração prevista de três anos e todas as pesquisas futuras que desejarem utilizar o material deste estudo deverão ser aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, se necessário, antes de serem iniciadas. Precisamos saber se você aceita que seu material seja guardado. Por favor, marque SIM ou NÃO abaixo:

☐ SIM

☐ NÃO

Se acontecer alguma coisa com suas amostras, como por exemplo, se quebrar um tubo ou se precisarmos destruir as amostras ou se acabarmos com o biorrepositório, nós tentaremos te informar, então o seu endereço, telefone e e-mail devem estar atualizados para podermos falar com você. Se houver algum impedimento em contatar você, nós apresentaremos uma justificativa ao Comitê de Ética em Pesquisa.

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):



PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA



A participação nesse estudo é voluntária, você decide se quer ou não participar. Se você escolher não participar ou que seu dependente legal não participe, seus direitos ou os direitos dele serão preservados e você não sofrerá nenhum tipo de punição. Caso aceite, você pode mudar de ideia e desistir de participar a qualquer momento. Você não precisa explicar porque você não quer mais participar, deve apenas comunicar à equipe do estudo. Você receberá toda assistência e tratamento mesmo que não queira participar do estudo e/ou mesmo que não queira mais manter as suas amostras armazenadas. Além disso, caso você se sinta lesado em qualquer momento do estudo, você poderá recorrer as vias legais para reivindicar os seus direitos.

Caso você tenha lido e entendido as informações neste termo – ou elas tenham sido lidas para você – e caso concorde em participar voluntariamente deste estudo, você e o pesquisador assinarão duas vias originais deste documento. Será também necessário que você e o (a) pesquisador(a) rubriquem (façam uma assinatura abreviada) todas as páginas das duas vias deste documento. Vamos te entregar uma via assinada e rubricada por você e pelo pesquisador. Ao assinar este documento, você não abrirá mão de nenhum direito legal.

DÚVIDAS

Se você tiver qualquer dúvida, ou se qualquer problema aparecer, você pode contatar a equipe do estudo ou o pesquisador responsável do estudo:

INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS - FIOCRUZ

Médico Responsável: **André Machado de Siqueira**

Endereço: Av. Brasil, 4365 – Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ. 21040-900.

Celulares 24h (21) 96722-2701 ou (21) 3865-9164

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

CEP (Comitê de Ética em Pesquisa) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco – CCS/UFPE

E-mail: cepeccs@ufpe.br.

Telefones: (81) 21268588

Horário de atendimento: 2ª a 6ª f. das 8 às 12h.

Endereço: Av. Das Engenharías, S/N – Prédio do Centro de Ciências da Saúde (CCS), 1º andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife, PE, CEP 50740600

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA – CONEP

SEPN 510 Norte, Bloco A, 3º andar

Edifício Ex-INAN – Unidade II – Ministério da Saúde

CEP: 70750-521 – Brasília – DF

Telefone: (61) 3315-5877

Horário de Funcionamento: 08 às 18h.

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):



A CONEP é uma instância colegiada com abrangência nacional, de natureza consultiva, deliberativa, no âmbito da emissão de pareceres sobre protocolos de pesquisas, normativa, no âmbito propositivo de Resoluções do CNS, educativa, autônoma, vinculada ao Conselho Nacional de Saúde - CNS, criada pela Resolução CNS 196/96, de 10/10/96. Tem por finalidade o acompanhamento das pesquisas envolvendo seres humanos em todo o país, e dos Comitês de Ética em Pesquisa institucionais, preservando os aspectos éticos primariamente em defesa da integridade e dignidade dos sujeitos da pesquisa, individual ou coletivamente considerados, levando-se em conta o pluralismo moral da sociedade brasileira.

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):

Versão Local 1.0 de 16/08/2019

baseada na Versão 1.3 do Centro
Coordenador de 20 de maio de 2019

Página 7 de 8



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Acredito ter sido suficientemente informado (a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo “Estudo Multicêntrico da História Natural e Resposta Terapêutica de Chikungunya com foco nas Manifestações Musculoesqueléticas Agudas e Crônicas”.

Eu discuti com os pesquisadores responsáveis sobre a minha decisão de participar ou autorizar que meu dependente legal participe do estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, quais são seus desconfortos e riscos, e a garantia de confidencialidade dos dados. Ficou claro também que minha participação, ou a participação do meu dependente legal, é livre de despesas e que existe garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Tive oportunidade de fazer perguntas e esclarecer minhas dúvidas sobre o estudo e entendo que sempre que eu tiver dúvidas elas serão esclarecidas.

Concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo, ou que meu dependente legal faça parte deste estudo, entendendo que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o estudo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício no atendimento neste Serviço.

Nome do participante:	<i>Como escrito no documento de identidade</i>
Assinatura do participante:	Data . / / .

Testemunha imparcial (para casos de participantes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual)

Nome da testemunha:	<i>Como escrito no documento de identidade</i>
Assinatura da testemunha:	Data . / / .

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante ou de seu representante legal para a sua participação neste estudo ou de seu filho(a) ou da pessoa que ele representa e forneci uma via ao participante deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome e assinatura do profissional que obteve consentimento:	Data . / / .
--	-----------------

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):

ANEXO 2: RP04 – Dados sociodemográficos



PID: _____ RP04 – Dados sociodemográficos – Versão 2 de 21 de março de 2022

DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS☞ Neste momento solicite o **documento de identificação** do paciente

6. Local de atendimento: _____

7. Nome completo: _____

☞ Neste momento solicite o **cartão do SUS** do paciente

8. Número do cartão do SUS: _____

☞ Neste momento devolva o **documento de identificação** e o **cartão do SUS** do paciente9. Data de nascimento: ____/____/____ 10. Idade (anos): ____
dd mm aaaa

11. Sexo biológico: (0) Feminino (1) Masculino _____

12. Naturalidade: _____

12.1. Cidade: _____

12.2. Estado: _____ 12.3. País: _____

13. Cor ou raça (autorreferida): _____

(1) Branco (2) Preto (3) Pardo (4) Amarelo/Oriental (5) Indígena _____

14. Ocupação: _____

15. Escolaridade: _____

(1) Analfabeto (5) 2º grau/ensino médio completo _____

(2) 1º grau/ensino fundamental incompleto (6) 3º grau/ensino superior incompleto _____

(3) 1º grau/ensino fundamental completo (7) 3º grau/ensino superior completo _____

(4) 2º grau/ensino médio incompleto (88) Não sabe/não quer responder _____

16. Estado civil: _____

(1) Solteiro(a) (4) Viúvo(a) _____

(2) Casado (a) (5) Divorciado(a) _____

(3) União estável (6) Separado(a) _____

☞ Neste momento solicite um **comprovante de endereço**. Caso o participante não tenha em mãos, confira detalhadamente o CEP no site oficial dos Correios para verificar se o número corresponde ao nome da rua e bairro informado.

17. Endereço Residencial: _____

17.1. Rua: _____

17.2. Nº da residência: _____ 17.3. Complemento: _____

17.4. Bairro: _____ 17.5. Cidade: _____

17.6. Estado: _____ 17.7. CEP: _____

18. Informações de contato: _____

18.1. Telefone residencial: _____

18.2. Telefone celular: _____

18.3. Telefone 3: _____

19. Contato para RECADO: _____

19.1. Telefone para recado: _____

19.2. Nome do contato para recado: _____

19.3. Grau de parentesco/relacionamento: _____

19.4. O contato para recado possui WhatsApp? (1) Sim (0) Não _____

19.5. O contato para recado aceitaria ser contactado via WhatsApp? (1) Sim (0) Não _____

Profissional que preencheu: _____

ANEXO 3: RP05 – Histórico médico

HISTÓRICO MÉDICO				
<i>Neste momento, todas as doenças e comorbidades serão investigadas, que tenham ocorrido pelo menos uma vez na vida.</i>				
Anemia	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Diabetes	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Asma	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Rinite	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC)	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Hipertensão Arterial Sistêmica	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Doença Coronariana	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Doença Renal	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Especifique:				
Doença Reumatológica	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Especifique:				
Doença Vascular	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Especifique:				
Neoplasias benignas, malignas ou inespecíficas	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Especifique:				
Doença Hepática	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Especifique:				
Infecção por HIV	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Doença Dermatológica	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Especifique:				

Página 5 de 10

PID: _____ RP05 – Ficha clínica – Versão 2 de 21 de março de 2022

Doença Neurológica	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Especifique:				
Doença Oftalmológica	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não sabe
Especifique:				
Outras:	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não se aplica

	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não se aplica

	(2) Tem atualmente	(1) Teve no passado	(0) Nunca teve	(88) Não se aplica

Observações sobre o histórico médico do participante:

ANEXO 4: RP06 – Ficha de sintomas



PID: _____

RP06 – Ficha de sintomas – Versão 2 de 21 de março de 2022

Estudo Multicêntrico da História Natural e Resposta Terapêutica de Chikungunya com foco nas Manifestações Musculoesqueléticas Agudas e Crônicas

Centro: _____

FICHA DE SINTOMAS													
Essa ficha contém 3 páginas. É imprescindível que esteja completa no momento do seu preenchimento.													
Prezado médico, este formulário será preenchido a cada consulta, e os participantes deverão ser questionados a respeito de todos os sintomas aqui mencionados. Ao final da consulta, assine, carimbe e date no espaço indicado da última página.													
DATA DA VISITA:	D0	D21	D90	D120	D180	D360	D720	D1080	D_EXTRA				
SINTOMAS	EPISÓDIO 1		EPISÓDIO 2		D0	D21	D90	D120	D180	D360	D720	D1080	D_EXTRA
	DATA DE INÍCIO	DATA DE FINAL	DATA DE INÍCIO	DATA DE FINAL									
FEBRE:					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
CEFALEIA:					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
FADIGA:					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
PALEIPEZ CUTÂNEA/MUCOSA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
HIPEREMIA CONJUNTIVAL					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
ICTERICIA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
TURVAÇÃO VISUAL					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não

Página 1 de 3



PID: _____

RP06 – Ficha de sintomas – Versão 2 de 21 de março de 2022

SINTOMAS	EPISÓDIO 1		EPISÓDIO 2		D0	D21	D90	D120	D180	D360	D720	D1080	D_EXTRA
	DATA DE INÍCIO	DATA DE FINAL	DATA DE INÍCIO	DATA DE FINAL									
NÁUSEA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
VÔMITOS					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
DIARREIA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
PARESTESIA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
DISESTESIA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
ARTRALGIA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
EDEMA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
MIALGIA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
LOMBALGIA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
PRURIDO					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
RASH CUTÂNEO					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
LESÃO CUTÂNEA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
TIPO DE LESÃO	(1) Mácula (2) Pápula (3) Placa	(4) Nódulo (5) Vesícula (6) Bolha	(7) Pústula (8) Urticária (9) Escama	(10) Crosta (11) Erosão (12) Úlcera	(16) Cicatriz (17) Teiangiectasia								
DEPRESSÃO					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
INSÔNIA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
ALOPECIA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não

Página 2 de 3

PID: _____

RP06 – Ficha de sintomas – Versão 2 de 21 de março de 2022

SINTOMAS	EPISÓDIO 1		EPISÓDIO 2		D0	D21	D90	D120	D180	D360	D720	D1080	D_EXTRA
	DATA DE INÍCIO	DATA DE FINAL	DATA DE INÍCIO	DATA DE FINAL									
ALTERAÇÃO DE MEMÓRIA					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
ALTERAÇÃO DE LIBIDO					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
OUTRO:					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não
OUTRO:					(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não	(1) Sim (0) Não

ATESTO QUE CONFERI TODOS OS SINTOMAS MENCIONADOS NESSE FORMULÁRIO

ASSINATURA E CARIMBO – MÉDICO D0	ASSINATURA E CARIMBO – MÉDICO D21
ASSINATURA E CARIMBO – MÉDICO D90	ASSINATURA E CARIMBO – MÉDICO D120
ASSINATURA E CARIMBO – MÉDICO D180	ASSINATURA E CARIMBO – MÉDICO D360
ASSINATURA E CARIMBO – MÉDICO D720	ASSINATURA E CARIMBO – MÉDICO D1080
ASSINATURA E CARIMBO – MÉDICO D_EXTRA	ASSINATURA E CARIMBO – MÉDICO D_EXTRA
OBSERVAÇÕES:	

ANEXO 5: RP08 – Escalas numéricas

ESCALAS NUMÉRICAS		
DOR: Quanta dor articular teve na última semana?		
Sem dor		Pior dor possível
	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	
		Dor: _____
FADIGA: Quanto que o cansaço fora do comum tem sido um problema para você na última semana?		
Fadiga não é um problema		Fadiga é um grande problema
	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	
		Fadiga: _____
ATIVIDADE DA DOENÇA HOJE: Considerando a dor e o inchaço das suas articulações, como você diria que está a atividade da sua condição reumática hoje?		
Nenhuma atividade		Extremamente ativa
	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	
		Atividade da doença hoje: _____
ATIVIDADE DA DOENÇA NOS ÚLTIMOS 6 MESES: Considerando a dor e o inchaço das suas articulações, como você diria que está a atividade da sua condição reumática nos últimos 6 meses?		
Nenhuma atividade		Extremamente ativa
	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	
		Atividade da doença nos últimos 6 meses: _____

Página 1 de 7

PID: _____

RP08 – Escalas numéricas – Versão 2 de 21 de março de 2022

SAÚDE GERAL: Considerando todas as maneiras como a sua saúde e a sua doença o afetam neste momento, como você está se sentindo?

Muito bem		Muito mal
	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	
		Saúde geral: _____

RIGIDEZ MATINAL: As suas articulações estavam rígidas quando você acordou hoje?

(1) Sim (2) Não _____

Se sim, há quanto tempo?

- | | |
|---|---|
| (1) menos de 30 minutos | (4) mais que 2 horas e menos de 4 horas |
| (2) mais que 30 minutos e menos de 1 hora | (5) mais que 4 horas |
| (3) mais de 1 hora e menos de 2 horas | (6) Todo o dia |

RP09 – Ficha reumatológica



PID: _____

RP09 – Ficha reumatológica - Versão 2 de 21 de março de 2022

Estudo Multicêntrico da História Natural e Resposta Terapêutica de Chikungunya com foco nas Manifestações Musculoesqueléticas Agudas e Crônicas

Centro: _____

Visita:

(1) D0 (2) D21 (3) D90 (4) D120 (5) D180 (6) D360 (7) D720 (8) D1080 (9) D-extra | _____ |

FICHA REUMATOLÓGICA

1. Data da consulta: |____|/|____|/|____|/|____|

2. Data do início dos sintomas: |____|/|____|/|____|/|____|

3. Fase da doença durante a visita:

(0) Fase Aguda - Até 14 dias após início dos sintomas | _____ |

(1) Subaguda - Entre 15 e 89 dias após início dos sintomas

(2) Crônica - ≥ 90 dias após início dos sintomas

CONSULTA REUMATOLÓGICA

4. Nome do médico: | _____ |

5. Hipótese diagnóstica

(1) Dengue

(2) Zika

(3) Chikungunya | _____ |

6. Tempo de manifestações musculoesqueléticas:

☞ Converta o tempo informado em dias | _____ |

7. Condição reumatológica prévia? (1) Sim (0) Não | _____ |

Se SIM, qual? | _____ |

8. Escala numérica:

8.1. Dor:

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 | _____ |

8.2. Fadiga:

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 | _____ |

8.3. Avaliação Geral da Saúde:

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 | _____ |

8.4. Atividade doença paciente

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 | _____ |

8.5. Atividade doença médico

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 | _____ |

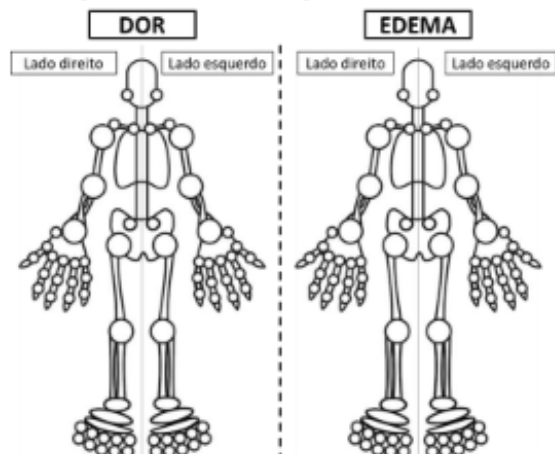
9. De acordo com Homúnculo, considerando 44 articulações, selecione as articulações dolorosas

Número de articulações dolorosas (NAD-44):

| _____ |

Número de articulações edemaciadas (NAE-44):

| _____ |



PID: _____

RP09 – Ficha reumatológica - Versão 2 de 21 de março de 2022

10. VHS: (1) Sim (2) Não _____

Se SIM, qual o resultado? _____ mm/hr

11. PCR (mg/dL): (1) Sim (2) Não _____

Se SIM, qual o resultado? _____ mg/dL

12. RDAI: _____

13. Pontuação para DAS-28 de Artrite ReumatoideUtiliza, apenas, **28 articulações** (ombros, cotovelos, punhos, metacarpofalangeanas, interfalangeanas proximais e joelhos), bilateralmente. *Necessita dos valores dos campos:*

NAD-28: _____

NAE-28: _____

VHS: _____ mm/hr

AGS: _____ (escala analógica mm)

DAS-28: _____

14. Índice Clínico de Atividade da Doença (CDAI)Utiliza, apenas, **28 articulações** (ombros, cotovelos, punhos, metacarpofalangeanas, interfalangeanas proximais e joelhos), bilateralmente. *Necessita dos valores dos campos:*

NAD-28: _____

NAE-28: _____

Atividade da doença pelo paciente (Escala analógica 10mm) _____

Atividade da doença pelo médico (Escala analógica 10mm) _____

CDAI: _____

15. Índice Clínico de Atividade da Doença (SDAI)Utiliza, apenas, **28 articulações** (ombros, cotovelos, punhos, metacarpofalangeanas, interfalangeanas proximais e joelhos), bilateralmente. *Necessita dos valores dos campos:*

NAD-28: _____

NAE-28: _____

Atividade Doença pelo paciente (Escala analógica 10mm) _____

Atividade Doença pelo médico (Escala analógica 10mm) _____

Proteína C-reativa: _____ mg/dL

SDAI: _____

16. Intensidade de dor HOJE

	Nenhuma	Leve	Moderada	Intensa	Resultado		Nenhuma	Leve	Moderada	Intensa	Resultado
Pescoço	(0)	(1)	(2)	(3)	_____		(0)	(1)	(2)	(3)	_____
Costas	(0)	(1)	(2)	(3)	_____		(0)	(1)	(2)	(3)	_____
	Lado esquerdo						Lado direito				
	Nenhuma	Leve	Moderada	Intensa	Resultado		Nenhuma	Leve	Moderada	Intensa	Resultado
Ombro	(0)	(1)	(2)	(3)	_____		(0)	(1)	(2)	(3)	_____
Cotovelo	(0)	(1)	(2)	(3)	_____		(0)	(1)	(2)	(3)	_____
Punho	(0)	(1)	(2)	(3)	_____		(0)	(1)	(2)	(3)	_____
Dedos/mãos	(0)	(1)	(2)	(3)	_____		(0)	(1)	(2)	(3)	_____
Quadril	(0)	(1)	(2)	(3)	_____		(0)	(1)	(2)	(3)	_____
Joelho	(0)	(1)	(2)	(3)	_____		(0)	(1)	(2)	(3)	_____
Tornozelo	(0)	(1)	(2)	(3)	_____		(0)	(1)	(2)	(3)	_____
Dedos/pés	(0)	(1)	(2)	(3)	_____		(0)	(1)	(2)	(3)	_____

PID: _____

RP09 – Ficha reumatológica - Versão 2 de 21 de março de 2022

Categoria de atividade da doença	DAS28	SDAI	CDAI
Varição	0 – 9,4	0 – 86,0	0 – 76,0
Remissão	< 2,6	≤ 3,3	≤ 2,8
Baixa	≥ 2,6 - < 3,2	> 3,3 – 11,0	> 2,8 – 10,0
Moderada	≥ 3,2 - ≤ 5,1	> 11,0 – 26,0	> 10,0 – 22,0
Alta	> 5,1	> 26	> 22

ATENÇÃO**17. PACIENTE EM ATIVIDADE DE DOENÇA CLASSIFICADA COMO:**

(1) Remissão (2) Baixa (3) Moderada (4) Alta

|_____|

18. Bursite? (1) Sim (2) Não

|_____|

Se SIM, qual o local? |_____|

19. Tenossinovite? (1) Sim (2) Não

|_____|

Se SIM, qual o local? |_____|

20. Entesite? (1) Sim (2) Não

|_____|

Se SIM, qual o local? |_____|

21. STC? (1) Sim (2) Não

|_____|

Se SIM, qual o local? |_____|

22. Outras? (1) Sim (2) Não

|_____|

Se SIM, quais? |_____|

|_____|

Assinatura/Carimbo do Médico

|_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_|_|_|_|
dd mm aaaa