



Evento: XXIX Seminário de Iniciação Científica

PERFIL FARMACOLÓGICO E BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO DE PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE SOB TRATAMENTO COM MEDICAMENTOS BIOLÓGICOS: UM ESTUDO PILOTO¹

PHARMACOLOGICAL PROFILE AND OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS OF PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS UNDER TREATMENT WITH BIOLOGICAL DRUGS: A PILOT STUDY

Karine Raquel Uhdich Kleibert², Lenara Schalanski Krause³, Janine Ribas Maciel⁴, Paula Lorenzoni Nunes⁵, Raida Ahmad Musa Mheisen Husein⁶, Christiane de Fátima Colet⁷

¹ Projeto de pesquisa desenvolvido na Unijuí

² Farmacêutica formada pela UNIJUI. karine.kleibert@sou.unijui.edu.br

³ Bolsista de iniciação científica CNPq/UNIJUI, acadêmica do curso de farmácia.

⁴ Farmacêutica, formada pela UNIJUI.

⁵ Farmacêutica, mestranda de Sistemas Ambientais e Sustentabilidade, Bolsista PROFAB - PG.

⁶ Médica reumatologista, Mestre em Atenção Integral à Saúde (UNIJUI).

⁷ Farmacêutica, Doutora em Ciências Farmacêuticas, professora da UNIJUI, dos mestrados de Sistemas Ambientais e Sustentabilidade, e Atenção Integral à Saúde, e dos cursos de Graduação da saúde. chriscolet@yahoo.com.br

RESUMO

Introdução: A artrite reumatoide é uma doença inflamatória autoimune, que causa dor nas articulações, e parece que o estresse oxidativo está relacionado com a fisiopatologia da doença. Entretanto, pouco se sabe sobre como os medicamentos utilizados para o tratamento afetam o perfil oxidativo desses pacientes. Objetivo: avaliar os biomarcadores de estresse oxidativo de pacientes com o tratamento de fármacos biológicos. Metodologia: Trata-se de um estudo observacional, transversal, quantitativo, analítico, que avaliou níveis de estresse oxidativo comparando o grupo de estudo com pacientes saudáveis e pacientes com artrite reumatoide sem tratamento. Resultados: Observou-se que o tratamento com medicamentos biológicos em pacientes com Artrite Reumatoide, diminui os níveis de Tióis Não-Proteicos nos pacientes com AR, ainda, os níveis de Catalase mostraram-se maiores nesse grupo, em comparação com os pacientes saudáveis. Considerações finais: Considera-se que mais pesquisas devem ser realizadas para melhor compreender qual a relação desses medicamentos e seu efeito no EO.

Palavras-chave: Abatacept. Etanercept. Adalimumabe. Catalase. Superóxido Dismutase.

INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença crônica, inflamatória e autoimune que afeta principalmente as articulações e está associada a anticorpos que têm como alvo várias moléculas, incluindo autoepítomos modificados (SMOLEN et al., 2018). Os avanços



científicos apontam que as terapias medicamentosas que previnem a progressão de lesões articulares irreversíveis em até 90% dos pacientes com AR (ALETAHA; SMOLEN, 2018). No Brasil, os protocolos clínicos, estabelecem o tratamento da AR, sendo dividido em etapas, na primeira, medicamentos modificadores do curso da doença sintéticos (MMCDs) são os utilizados, sendo que a primeira escolha é o metotrexato. Na segunda etapa estão os medicamentos modificadores do curso da doença biológicos (MMCD BIO). O protocolo preconiza, que em caso de falha terapêutica, segue-se para o próximo esquema (BRASIL, 2019).

Vários mecanismos estão relacionados com a patogênese da AR. Dentre eles, as espécies reativas de oxigênio podem ativar diferentes vias de sinalização tendo uma importância vital na fisiopatologia da AR (PHULL et al., 2018). Na literatura é descrito que, pacientes com AR, tratados com produtos biológicos, bloqueadores do fator de necrose tumoral (infliximabe, etanercepte) ou com IL-6 -bloqueador biológico (tocilizumab), há diminuição do EO (HIRAO et al., 2012).

Contudo, ainda, pouco se sabe sobre como os tratamentos afetam diretamente no EO de pacientes com AR. Dessa maneira, o objetivo do trabalho é avaliar os biomarcadores de estresse oxidativo de pacientes com o tratamento de fármacos biológicos.

METODOLOGIA

Para a construção desta pesquisa foi empregado o método de estudo observacional, transversal e quantitativo a fim de avaliar o perfil do estresse oxidativo de pacientes com AR. O presente trabalho foi realizado no município de Ijuí, RS – Brasil, em consultório particular da médica reumatologista colaboradora da pesquisa. A escolha dos participantes ocorreu de forma aleatória e a amostragem intencional. Foram escolhidos para o estudo 4 pacientes com diagnóstico de AR, que estavam em tratamento com um medicamento biológico. Ainda, foram alocados um grupo controle negativo (CN) que foram pacientes sem dor ou processos inflamatórios (saudáveis), e um grupo de pacientes com AR sem tratamento farmacológico para essa doença a fim de comparação estatística. Os Critérios de Inclusão foram: Ser diagnosticado com AR; Ser maior de 18 anos e aceitar participar da pesquisa e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os Critérios de Exclusão foram: Possuir outras doenças autoimune inflamatórias; Não aceitar participar da pesquisa.



A coleta de dados ocorreu por meio da aplicação de um questionário. Foram realizadas coletas de amostra biológica de sangue, para as análises dos biomarcadores de estresse oxidativo em tubo de EDTA para obtenção dos eritrócitos (RBC), que após processamento foram congeladas em freezer a menos de zero graus célsius até a análise. Para quantificar a presença dos biomarcadores do EO foram utilizadas as técnicas laboratoriais a seguir: A atividade da CAT nas hemácias foram medidas por método Aebi (AEBI, 1984). A atividade da SOD foi analisada pelo método descrito por McCord e Fridovich (MCCORD; FRIDOVICH, 1969). Os grupos tiol não proteicos de hemácias permitem verificar indiretamente os níveis de GSH (BOYNE; ELLMAN, 1972). O TBARS utiliza leitura realizada em 532nm (MOORE; BRUMMITT; MANKAD, 1989). As técnicas foram realizadas utilizando espectrofotômetro UV –VIS, modelo IL-592-LC-BI.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) versão 23.0. Os dados contínuos descritos através de média \pm desvio padrão (DP). Para verificar a associação entre as variáveis quantitativas foi utilizado o teste de comparação de médias para amostras pareadas por teste t de student. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ), com o número do parecer 4.019.693/2020.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram incluídos na pesquisa quatro pacientes usuários de medicamento biológico. Todas são do sexo feminino, com média de idade de $52,75 \pm 5,44$. As comorbidades associadas na população, foram: hipertensão em 3 (75%), e diabetes, hipercolesterolemia, e depressão em 2 (50%). Em relação aos medicamentos, toda a amostra utilizava obrigatoriamente um imunossupressor biológico, sendo estes o etanercept usado por uma pessoa, o adalimumabe duas, e o abatacepte uma. A média de medicamentos utilizados foi $7 \pm 3,16$, sendo o máximo 11 e o mínimo 4. Em relação aos outros medicamentos utilizados, o ácido fólico e o metotrexato foram citados por 75%. A metformina, omeprazol, hidroclorotiazida e losartana foram citadas por 50%, e leflunamida, ácido acetilsalicílico, anlodipino, sinvastatina, amitriptilina, duloxetina, gabapentina, pregabalina, sertralina e cálcio por 25%.



Os medicamentos biológicos, são indicados para o tratamento de adultos com AR ativa de intensidade moderada a grave, com resposta anterior inadequada à terapia com DMARDs, e devem ser usados preferencialmente de forma concomitante aos MMCDS. O Abatacepte e tocilizumabe são indicados também em caso de resposta inadequada aos anti-TNF (adalimumabe, certolizumabe pegol, etanercepte, golimumabe e infliximabe) (CONITEC, 2012). Sendo que no presente estudo, três pacientes utilizavam o metotrexato associado ao biológico, e um a leflunomida, conforme preconizado pelo ministério da saúde.

Os pacientes em tratamento com medicamentos biológicos tiveram níveis de NP-SH menores que os pacientes com AR sem tratamento ($p=0,031$). Os níveis de CAT foram maiores que o GC ($p=0,017$) e ao grupo AR sem tratamento, embora esse, sem diferença estatística. O TBARS foi maior no grupo com AR com tratamento com medicamentos biológicos que os outros grupos, embora sem diferença estatística. Os dados são demonstrados na tabela 1.

Tabela 1 - Análise estatística dos biomarcadores de estresse oxidativo de pacientes com Artrite reumatoide, com tratamento farmacológico de imunobiológicos, os comparando com o grupo controle e o grupo com artrite reumatoide sem tratamento. Ijuí, Rio Grande do Sul, 2021. (N=4)

Variável	AR - TB	GC	AR - ST	p1	p2
NP - SH	737,78 ± 865,11	1268,12 ± 507,34	2434,84 ± 976,48	0,390	0,031*
CAT	106,30 ± 23,11	70,64 ± 35,61	67,94 ± 30,26	0,017*	0,191
SOD	175,17 ± 223,95	152,01 ± 151,45	270,61 ± 220,41	0,880	0,644
TBARS	8,14 ± 6,15	2,3675 ± 1,25	4,96 ± 1,10	0,112	0,358

p1 (AR - TB x GC); p2 (AR - TB x AR - ST); AR - TB (Artrite reumatoide com tratamento biológico); GC(Grupo controle); AR - ST(Artrite reumatoide sem tratamento farmacológico); (CAT) Catalase (mmol/H₂O₂/mL eri); (SOD) Superóxido Dismutase (SOD/mL Hb); (NP-SH) Tióis Não-Proteicos (nmol NP-SH/mL eri); (TBARS) Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (nmol MDA/mL eri). (p) do teste de t de Student para amostras emparelhadas.; (*) $p < 0,05$.

Os dados acerca dos marcadores do estresse oxidativo em pacientes com AR tratados com medicamentos biológicos ainda são escassos na literatura. Destaca-se um estudo com o etanercepte, que descreveu, que esse, pode melhorar o estresse oxidativo, a inflamação e o dano histopatológico induzidos pela sepse no rim e no sangue de ratos experimentais (AYDIN et al., 2020). Já em pesquisa com pessoas com AR, demonstrou-se que o etanercepte atua como um regulador contra a formação de pentosidina, dano oxidativo ao DNA e peroxidação lipídica em pacientes com AR (KAGEYAMA et al., 2008). Considerando o adalimumabe e sua atuação no EO, trabalho que avaliou lesão de isquemia-reperfusão ovariana em ratos, observou que o status antioxidante total do tecido aumentou (BEYAZIT et al., 2019).



Entretanto, não foram encontradas nas pesquisas realizadas estudos que avaliassem o Abatacept e sua relação com o EO, nem estudos com os marcadores avaliados nessas pesquisas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se que o tratamento com medicamentos biológicos em pacientes com AR, diminui os níveis de NP-SH nos pacientes com AR, ainda, os níveis de CAT mostraram-se maiores nesse grupo, em comparação com os pacientes saudáveis. Considera-se que ainda são escassos os estudos nessa área, e que mais pesquisas devem ser realizadas para melhor compreender qual a relação desses medicamentos e seu efeito no EO.

AGRADECIMENTOS

CNPQ/UNIJUI

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. In: *Methods in Enzymology*. Elsevier, 1984. v. 105p. 121–126. E-book. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0076687984050163>. Acesso em: 15 mar. 2020.
- ALETAHA, D.; SMOLEN, J. S. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis: A Review. *JAMA*, v. 320, n. 13, p. 1360–1372, 2018.
- AYDIN, E. et al. Evaluation of the effect of intraperitoneal etanercept administration on oxidative stress and inflammation indicators in the kidney and blood of experimental sepsis-induced rats. *Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical*, v. 53, p. e20200016, 2020.
- BEYAZIT, F. et al. Adalimumab mitigates ovarian ischemia-reperfusion injury in rats by regulating oxidative stress, apoptosis and resolution of inflammation. *The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, v. 45, n. 2, p. 358–367, 2019.
- BOYNE, A. F.; ELLMAN, G. F. A methodology for analysis of tissue sulfhydryl componentes. *Anal Biochem*, v. 46, n. 2, p. 639-53, 1972.
- BRASIL. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Artrite Reumatóide. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.
- CONITEC. Medicamentos Biológicos (infliximabe, etanercepte, adalimumabe, rituximabe, abatacepte, tocilizumabe, golimumabe e certolizumabe pegol) para o tratamento da Artrite Reumatóide. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.
- HIRAO, M. et al. Serum level of oxidative stress marker is dramatically low in patients with rheumatoid arthritis treated with tocilizumab. *Rheumatology International*, v. 32, n. 12, p. 4041–4045, 2012.
- KAGEYAMA, Y. et al. Etanercept reduces the oxidative stress marker levels in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*, v. 28, n. 3, p. 245–251, 2008.
- MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*, v. 244, n. 22, 1969.
- MOORE, R. B.; BRUMMITT, M. L.; MANKAD, V. N. Hydroperoxides selectively inhibit human erythrocyte membrane enzymes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 273, n. 2, p. 527–534, 1989.
- PHULL, A. R. et al. Oxidative stress, consequences and ROS mediated cellular signaling in rheumatoid arthritis. *Chemico-Biological Interactions*, v. 281, p. 121–136, 2018.
- SMOLEN, J. S. et al. Rheumatoid arthritis. *Nature Reviews. Disease Primers*, v. 4, p. 18001, 2018.