

Evento: XXX Seminário de Iniciação Científica.

**AValiação DO PERFIL DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM
ARTRITE REUMATOIDE EM USO DE DMARDS CONVENCIONAIS E
BIOLÓGICOS: UM ESTUDO PILOTO¹**

**EVALUATION OF THE OXIDATIVE STRESS PROFILE IN PATIENTS WITH RHEUMATOID
ARTHRITIS USING CONVENTIONAL AND BIOLOGICAL DMARDS: A PILOT STUDY¹**

**Ana Paula Weber Fell², Lenara Schalanski Krause³, Karine Raquel Uhdich Kleibert⁴,
Raida Ahmad Musa Husein⁵, Isabella Stivanin Lacerda⁶, Christiane de Fátima Colet⁷**

¹ Projeto de pesquisa desenvolvido na UNIJUÍ

² Acadêmica do curso de farmácia, bolsista de iniciação científica CNPq/UNIJUÍ.

³ Acadêmica do curso de farmácia, bolsista de iniciação tecnológica CNPq/UNIJUÍ.

⁴ Farmacêutica formada pela UNIJUÍ, mestranda em Atenção Integral à Saúde da UNIJUÍ.

⁵ Médica reumatologista, Mestre em Atenção Integral à Saúde (UNIJUÍ).

⁶ Acadêmica do curso de medicina, bolsista de iniciação científica FAPERGS/UNIJUÍ.

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

INTRODUÇÃO

O tratamento da artrite reumatoide (AR) inclui métodos farmacológicos como: anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), glicocorticóides imunossupressores e drogas antirreumáticas modificadoras da doença (DMARD), estes últimos classificados em sintéticas convencionais (DMARDc) e biológicas (DMARDb). Segundo os protocolos para a AR, na primeira linha de tratamento está o metotrexato (MTX), um DMARDc e na ausência de melhora clínica adiciona-se ao tratamento um bDMARD (LIN; ANZAGHE; SCHÜLKE, 2020).

O tratamento farmacológico é fundamental para manter o paciente com qualidade de vida, sem dor e com menores níveis de estresse oxidativo (EO). Este último está envolvido na patogênese da AR (FERREIRA *et al.*, 2021), e reduz a capacidade antioxidante do organismo e seu potencial de neutralizar o nível de EROs (DA FONSECA *et al.*, 2019; MITITELU *et al.*, 2020). O EO pode desencadear uma alteração nos fatores de transcrição, o que leva à expressão diferente de alguns genes envolvidos no processo inflamatório piorando o quadro clínico do paciente (BEHL *et al.*, 2021).

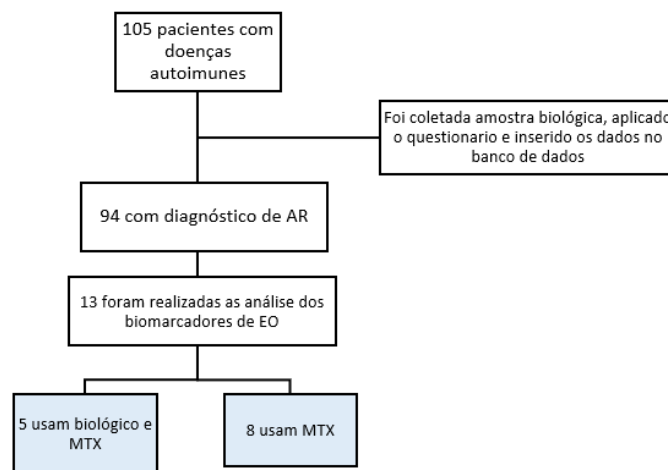
Diante do exposto, o presente trabalho buscou avaliar pacientes com AR utilizando dois tratamentos distintos e associar com biomarcadores de estresse oxidativo.

METODOLOGIA



Trata-se de estudo transversal, quantitativo e analítico. A amostra desta pesquisa foi constituída por pacientes de uma clínica particular do município de Ijuí/RS. Os critérios de inclusão foram: ter diagnóstico médico de AR, a partir dos critérios EULAR (2010), ser maior de 18 anos e aceitar participar da pesquisa. O critério de exclusão foi possuir outras doenças autoimunes inflamatórias. A coleta de dados foi realizada entre os meses de dezembro de 2021 a junho de 2022. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIJUÍ, com o número do parecer 5.036.187/2021. A descrição da inclusão dos pacientes na pesquisa está apresentada na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma de inclusão de pacientes na pesquisa.



Legenda: Artrite reumatóide (AR); estresse oxidativo (EO); metotrexato (MTX)

Os dados sociodemográficos e clínicos dos pacientes foram coletados através de um questionário, no momento da consulta médica, pela bolsista. As técnicas para avaliar biomarcadores de EO utilizaram eritrócitos (RBC) e foram: a) CAT foi medida pelo método Aebi (1984) e expressa em μmol de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mL}$ de RBC; b) SOD foi analisada pelo método descrito por Mccord e Fridovich (1969), expressa em U SOD/mL de hemoglobina; c) SH-não proteico que permite verificar indiretamente os níveis de Glutathiona (GSH), foram determinados pelo método de Boyne e Ellman (1972) e expressa em $\text{nmol NP-SH}/\text{mL}$ de RBC; d) TBARS foi realizada a partir da metodologia descrita por Moore, Brummit e Mankad (1989) e expressa em $\text{nmol MDA}/\text{mL}$ de RBC.

Para a análise dos dados foi utilizado fórmulas científicas no programa Microsoft Excel. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) versão 23.0. Para comparar as médias de valores entre



os grupos estudados foi utilizado Teste T para amostras independentes, com nível de significância de 0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Participaram do estudo 13 pessoas com AR, sendo 12 (92,3%) mulheres, com idade média de 53,62 anos (máximo 66 e mínimo 39 anos). Tais dados estão em consonância a outros estudos que demonstram que a AR é mais prevalente no sexo feminino (SMOLEN *et al.*, 2014; MATEEN *et al.*, 2016).

Desses pacientes, 8 (61,5%) usam apenas MTX como terapia farmacológica e 5 (38,5%) usam MTX associado a um biológico, conforme Figura 1. Os medicamentos biológicos utilizados eram: adatacept, etanercept e adalimumabe.

Um dos fatores relacionados à patogênese da AR é o EO, como indicado no estudo realizado por Mateen *et al.* (2016), que avaliou pacientes com AR e controles saudáveis e evidenciou aumento da produção intracelular de EROs, aumento da peroxidação lipídica, e sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático prejudicado do corpo. Tais achados já foram encontrados no grupo de pesquisas e apresentados por Kleibert *et al.* (2021).

Neste presente estudo os níveis de SH-NP, que dosam indiretamente glutatona reduzida (GSH), foram significativamente maiores (0,025) no grupo que utiliza MTX e biológico, indicando que o sistema de defesa antioxidante enzimático catalizado pela glutatona peroxidase (GPx) estaria menos ativado, como demonstrado na Tabela 1. Pode-se inferir que o grupo tratado com MTX e biológico estaria menos exposto a processos oxidativos (BARBOSA *et al.*, 2010).

Tabela 1. Associação de biomarcadores de estresse oxidativo de pacientes em uso de tratamento com MTX e MTX e biológico. n=13, 2022.

	MTX	MTX e biológico	p
	Média ± DP	Média ± DP	
SH	582,98±156,09	1065,77±518,53	0,025*
SOD	256,16±122,04	246,48±167,77	0,561
CAT	97,59±34,47	94,82±32,57	0,542
TBARS	10,71±6,64	12,90±5,00	0,598

Legenda: média±desvio padrão (DP); *Teste T para amostras independentes, significativo para p<0,05; metotrexato (MTX); grupos tóxis não proteicos (SH-NP); superóxido dismutase (SOD); catalase (CAT); espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).



No que diz respeito aos outros biomarcadores não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos. Em contrapartida, no estudo de Štenová *et al.* (2021) demonstrou que o tratamento com DMARDS biológicos diminui a peroxidação lipídica, ao comparar os mesmos pacientes antes de iniciar o tratamento e após 6 meses. No presente estudo foram comparados dois grupos de pacientes distintos, o que pode justificar as diferenças encontradas, assim como o tamanho amostral pode ter prejudicado certas inferências causais. Outra pesquisa demonstrou aumento da peroxidação lipídica em pacientes com AR, mas não houve diferença significativa entre os subgrupos, tratados com terapia sintética versus terapia combinada (DMARDS_c+ DMARDS_b) (MITITELU *et al.*, 2020).

No presente estudo não havia grupo controle para comparar com os pacientes com AR, mas os dados demonstram que as terapias em uso possivelmente estão controlando a doença nestes pacientes.

A partir disso, verifica-se diferenças metodológicas entre os estudos publicados, a maioria com curtos períodos de coleta de dados e com baixo número de pacientes, o que dificulta a comparação entre eles, além de serem escassos aqueles que abordam o papel dos antioxidantes como adjuvantes terapêuticos no controle da atividade da doença (DA FONSECA *et al.*, 2019). Sendo assim, é importante que estudos nesta área continuem sendo realizados para compreender o impacto que o EO possui sobre a AR e também se os diferentes tratamentos influenciam na defesa antioxidante dos pacientes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os níveis de SH-NP foram significativamente maiores no grupo que utiliza terapia com MTX e biológico, comparado ao grupo que utiliza apenas MTX, indicando que a primeira terapia estaria controlando de forma mais efetiva o processo oxidativo. Os outros biomarcadores não demonstraram diferenças significativas.

Diante do exposto, necessita-se de mais pesquisas na presente área, visando dar continuidade a este trabalho, com análises dos biomarcadores para atingir um número apropriado de pacientes e contribuir no conhecimento sobre este importante tema de saúde.

Palavras-chave: Catalase. Superóxido Dismutase. Glutathiona.



AGRADECIMENTOS

CNPQ/UNIJUÍ

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. [13] Catalase in vitro. Em: *Methods in Enzymology. Oxygen Radicals in Biological Systems*. [s.l.] Academic Press, 1984. v. 105p. 121–126.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição*, v. 23, n. 4, p. 629–643, ago. 2010.
- BEHL, T. et al. Polyphenols Targeting MAPK Mediated Oxidative Stress and Inflammation in Rheumatoid Arthritis. *Molecules*, v. 26, n. 21, p. 6570, 30 out. 2021.
- BOYNE, A. F.; ELLMAN, G. L. A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components. *Analytical Biochemistry*, v. 46, n. 2, p. 639–653, abr. 1972.
- EULAR. Critério de classificação da artrite reumatoide ACR-EULAR 2010. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 50, p. 481–483, 2010.
- FERREIRA, H. B. et al. Insights in the Role of Lipids, Oxidative Stress and Inflammation in Rheumatoid Arthritis Unveiled by New Trends in Lipidomic Investigations. *Antioxidants*, v. 10, n. 1, p. 45, 2 jan. 2021.
- LIN, Y.-J.; ANZAGHE, M.; SCHÜLKE, S. Update on the Pathomechanism, Diagnosis, and Treatment Options for Rheumatoid Arthritis. *Cells*, v. 9, n. 4, p. 880, 3 abr. 2020.
- KLEIBERT, R. U. K. et al. Perfil farmacológico e biomarcadores de estresse oxidativo de pacientes com artrite reumatóide sob tratamento com medicamentos biológicos: um estudo piloto. *Anais do Salão do Conhecimento -UNIJUÍ*. 2021.
- MATEEN, S. et al. Increased Reactive Oxygen Species Formation and Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis. *PLoS ONE*, v. 11, n. 4, p. e0152925, 4 abr. 2016.
- MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*, v. 244, n. 22, p. 6049–6055, 25 nov. 1969.
- MITITELU, R. R. et al. Inflammatory and Oxidative Stress Markers—Mirror Tools in Rheumatoid Arthritis. *Biomedicines*, v. 8, n. 5, p. 125, 15 maio 2020.
- 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, set. 1989.
- ŠTEŇOVÁ, E. et al. Biological Anti-TNF- α Therapy and Markers of Oxidative and Carbonyl Stress in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2021, p. 5575479, 22 dez. 2021.