



Evento: XXX Seminário de Iniciação Científica

**ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE EM USO DE METOTREXATO VIA INJETÁVEL E ORAL: UM ESTUDO PILOTO<sup>1</sup>**

**OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS USING ORAL AND INJECTABLE METHOTREXATE: A PILOT STUDY**

**Isabella Stivanin Lacerda<sup>2</sup>, Bruna Wiest<sup>3</sup>, Ana Paula Weber Fell<sup>3</sup>, Cassiano Andrei Dos Santos Queiroz<sup>4</sup>, Raida Ahmad Musa Mheisen Husein<sup>5</sup>, Christiane Colet<sup>6</sup>**

<sup>1</sup> Estudo desenvolvido pelo Projeto de Pesquisa em uso de Medicamentos e Plantas Medicinais da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI).

<sup>2</sup> Estudante do curso de Graduação em Medicina da Unijui, bolsista do Programa Institucional de Iniciação Científica da UNIJUI - FAPERGS/UNIJUI, isabella.lacerda@sou.unijui.edu.br

<sup>3</sup> Estudante do curso de Graduação em Farmácia da Unijui, bolsista do Programa Institucional de Iniciação Científica da UNIJUI - CNPQ/UNIJUI.

<sup>4</sup> Estudante do curso de Graduação em Farmácia da Unijui, bolsista do Programa Institucional de Iniciação Tecnológica da UNIJUI - CNPQ/UNIJUI.

<sup>5</sup> Médica. Mestre em Atenção Integral à Saúde UNIJUI/UNICRUZ.

<sup>6</sup> Professora Orientadora, Doutora em Ciências Farmacêuticas, curso de Farmácia (UNIJUI), christiane.colet@unijui.edu.br

## **INTRODUÇÃO**

O organismo possui um complexo sistema de proteção antioxidante, como mecanismo de defesa contra os radicais livres, que são formados constantemente no metabolismo celular normal, acelerados na presença de eventos patológicos e, quando em excesso, podem ocasionar a oxidação de moléculas biológicas. O desequilíbrio entre o processo oxidativo e a capacidade de defesa antioxidante do organismo é denominado de estresse oxidativo (MACHADO et al., 2009).

O estresse oxidativo é resultado de três fatores associados ou não: (1) aumento na geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) e/ou de nitrogênio (ERN), através da acumulação de intermediários reativos; (2) prejuízo do sistema de defesa antioxidante; (3) incapacidade para reparar danos oxidativos (MACHADO et al., 2009). Sendo que a cronicidade do processo oxidativo tem relevantes implicações sobre o processo etiológico de numerosas enfermidades crônicas não transmissíveis, entre elas a artrite reumatóide.

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune inflamatória sistêmica caracterizada pelo processo inflamatório crônico, que pode lesar tanto articulações quanto órgãos extra-articulares (CONFORTI et al., 2021). Os pacientes com AR apresentaram maior produção de ERO, aumento da peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, danos ao DNA, em comparação com os indivíduos saudáveis (MATEEN et al., 2016), diferenças significativas também foram observadas nos níveis séricos de NO em pacientes com alta atividade de doenças, o que pode levar a danos teciduais. (VESELINOVIC et al., 2014).



Neste estudo, a escolha de pacientes com AR que fazem uso de metotrexato (MTX) deve-se a este ser o medicamento de primeira linha para o tratamento, mesmo com o registro de inúmeras novas terapias para AR (VISSER, 2009). Diante deste contexto, o estudo buscou avaliar pacientes com AR em uso de MTX utilizando duas vias de administração, oral e injetável, 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 Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ), com o número do parecer 5.036.187/2021.

Foram selecionados 105 pacientes com doenças autoimunes, sendo realizado o questionário para os dados sociodemográficos e clínicos e incluído 94 com o diagnóstico de AR. Dentre esses pacientes, 8 usuários de Metotrexato (MTX) foram realizadas as análises do Estresse Oxidativo, divididos em dois grupos: 3 que fazem uso de MTX injetável e 5 que fazem uso de maneira oral. Para as análises dos biomarcadores de EO: catalase (CAT); superóxido dismutase (SOD); grupos tiol não proteicos (NP-SH) e Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) foi coletado sangue um tubo de ácido etileno-diamino-tetra-acético (EDTA) para obtenção dos eritrócitos (RBC), no qual as amostras de sangue total foram processadas por centrifugação e lavadas com Cloreto de Sódio (NaCl) 0,9%. Após, essas foram congeladas em freezer a 0°C até a análise.

As técnicas para avaliar biomarcadores de EO foram: a) CAT foi medida pelo método Aebi (1984) e expressa em  $\mu\text{mol}$  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 nmol NP-SH/mL de RBC; d) TBARS foi realizada a partir da metodologia descrita por Moore, Brummit e Mankad (1989) e expressa em nmol MDA/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.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo teve a participação de 8 pacientes com AR, do sexo feminino, com idade média de 53,25 anos (máximo 67 e mínimo 40 anos). Tais dados estão de acordo com o estudo de Carvalho et al. (2009) e Silvestre-Rangil et al. (2016) em que a AR pode afetar indivíduos de todas as faixas etárias, mas com maior frequência entre os 35 e 65 anos, sendo três vezes mais prevalente no sexo feminino.

Desses pacientes, 5 (62,5%) usam o MTX como terapia oral e 3 (37,5%) usam MTX injetável. Os participantes que fazem o tratamento por via oral, usam 6 cápsulas de 2,5 mg, no total 15 mg por semana e os que usam de maneira injetável 1mL: 25mg/ml por semana. A biodisponibilidade de doses orais mais altas de MTX em pacientes adultos com AR é altamente variável e, em média, é dois terços da administração subcutânea (SC) ou intramuscular (IM) (PREY et al., 2009). Uma revisão concluiu que a biodisponibilidade do MTX oral diminui em doses acima de 17,5mg (FERRANTE, ANGELO et al., 2010) indicando que a administração parentérica é preferível. Contudo, por mais que a administração parenteral de MTX resulte em biodisponibilidade melhor e confiável, ainda não está claro se isso resulta em eficácia e segurança clínica superiores.

Em relação ao EO, o mecanismo de hepatotoxicidade induzida pelo metotrexato aumenta a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio, inibe a desidrogenase dependente de NADP citosólica e a enzima málica NADP, que reduzem os níveis de glutathiona, superóxido dismutase, catalase e, finalmente, reduzindo a eficácia da o sistema de defesa antioxidante protegendo a célula contra ROS (KUMARI S., 2016).

**Tabela 1.** Associação de biomarcadores de estresse oxidativo de pacientes em uso de tratamento com MTX oral e injetável. n=8, 2022.

	MTX Oral	MTX Injetável	p
	Média ± DP	Média ± DP	
SH	317,99±155,994	500,65±213,619	0,554
SOD	291,50±138,214	676,87±364,54	0,144
CAT	125,96±12,83	52,98±19,227	0,419
TBARS	6,95±4,46	6,91±1,32	0,187



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

No atual trabalho, percebe-se valores relevantes de biomarcadores de estresse oxidativos, mas em comparação do uso via oral ou injetáveis não houve diferença significativa, como demonstrado na Tabela 1. Todavia, como o estudo de Jones, T. et al (2018), o uso de MTX subcutâneo tem uma menor toxicidade com redução altamente significativa na taxa de neutropenia e na taxa de problemas hepáticos em relação ao oral, de modo que, conseqüentemente, menores biomarcadores de EO. Também, o sistema de defesa antioxidante é reduzido em pessoas que fazem administração oral, o que leva a mais efeitos colaterais, baixa adesão e eficácia ao tratamento em comparação aos pacientes que faziam uso via parenteral (ROZIN et al., 2020).

O fato do presente estudo não ter diferenças relevantes entre os dois grupos, e assim não corroborar com os artigos supracitados, pode ser justificado pelo limitado tamanho amostral e pela inexistência de um tempo padrão de tratamento em ambos os grupos, prejudicando os resultados obtidos. Ademais, o estudo não havia grupo controle para comparar com os pacientes com AR, mas os dados demonstram que independente da via de uso, a doença está controlada nesses pacientes.

Assim, são necessários mais estudos com maior amostra para verificar e compreender os efeitos do EO em pacientes com artrite reumatóide e certificar se há diferença na via de administração do metotrexato no sistema imunológico dos seus usuários.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados das análises dos biomarcadores de estresse oxidativo entre os dois grupos, orais e injetáveis, não tiveram diferenças significativas, concluindo que não há via de administração que controle de forma mais efetiva o estresse oxidativo nesses pacientes. Entretanto, muitos estudos apontam que tratamentos orais com MTX são mais tóxicos que os injetáveis.

Desse modo, é indubitável que mais pesquisas na área, com uma amostra maior de pessoas com artrite reumatóide que fazem uso com o MTX para analisar os biomarcadores de maneira mais efetiva e contribuir para esse importante tema.

**Palavras-chave:** Catalase. Superóxido Dismutase. Doença Autoimune.

## **AGRADECIMENTOS**



Agradecimento a FAPERGS/UNIJUÍ pelo incentivo e realização da pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CONFORTI A., di Cola I., Pavlych V., Ruscitti P., et al. Além das articulações, as manifestações extra-articulares na artrite reumatóide. *Autoimune Rev.* v. 20, p. 102735. 2021.

EULAR. Critério de classificação da artrite reumatoide ACR-EULAR 2010. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 50, p. 481–483, 2010.

FERRANTE, A. et al. “A Th1 but not a Th17 response is present in the gastrointestinal involvement of Behçet's disease.” *Clinical and experimental rheumatology* v. 28, n. 4, p. 27-30. 2010.

JONES T, et al. Subcutaneous methotrexate is safer and more effective than oral methotrexate alone and in combination. *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 77, p. 978-979, 2018

KUMARI, S. Methotrexate induced hepatotoxicity and its management. *Inter J Sci Res.* v. 5, p. 1477-1481.2016]

MACHADO, L; et al. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse em Medicina Veterinária. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, v. 8, n. 1, p. 84-94, 2009.

MATEEN, Somaiya et al. Increased Reactive Oxygen Species Formation and Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis. *PloS One*, v. 11, n. 4, p. e0152925, 2016.

MOORE, R. B.; et al. Hydroperoxides selectively inhibit human erythrocyte membrane enzymes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 273, n. 2, p. 527–534, set. 1989.

PREY, S. “Effect of folic or folinic acid supplementation on methotrexate-associated safety and efficacy in inflammatory disease: a systematic review.” *The British journal of dermatology* v. 160, n. 3, p. 622-628, 2009.

ROZIN, A; et al. Recidiva da artrite reumatóide após a substituição da administração oral por parenteral de metotrexato. *Ann Rheum Dis.* v. 61, p. 756-757. 2020.

SILVESTRE-RANGIL, J.; et al. Oral manifestations of rheumatoid arthritis. A cross-sectional study of 73 patients. *Clinical Oral Investigations*, v. 20, n. 9, p. 2575-2580, dez. 2016.

VESELINOVIC, Mirjana et al. Oxidative stress in rheumatoid arthritis patients: relationship to diseases activity. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v. 391, n. 1-2, p. 225-232, jun. 2014.

VISSER, K. Optimal dosage and route of administration of methotrexate in rheumatoid arthritis: a systematic review of the literature. *Ann Rheum Dis.* v. 68, n.7, p. 1094-9. 2009.