

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

Débora Raquel Duarte Inácio

*Terapêutica anti-TNF alfa no tratamento da artrite
reumatoide*

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

Débora Raquel Duarte Inácio

*Terapêutica anti-TNF alfa no tratamento da artrite
reumatoide*

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob a orientação de:

Professora Doutora Maria Dulce da Mota Antunes de Oliveira Estêvão

Terapêutica anti-TNF alfa no tratamento da artrite reumatoide

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser o autor deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

© 2023 Débora Raquel Duarte Inácio

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho, através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Resumo

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune inflamatória crônica, que tem como principal característica a inflamação das membranas sinoviais articulares, o que origina dor, inchaço, rigidez das articulações e limitação do movimento. A sua evolução causa deformação articular e, conseqüentemente, eventual incapacidade locomotora. Outros tecidos também podem ser afetados, como os pulmões, coração e olhos.

O diagnóstico e tratamento precoces são essenciais para abrandar a evolução da patologia. Estão disponíveis várias classes de fármacos que podem ser utilizadas no seu tratamento, porém apenas os fármacos modificadores do curso da doença (DMARDs, do inglês, *Disease-modifying antirheumatic drugs*) previnem a danificação articular e deformação. Estes são classificados como sintéticos/clássicos ou biológicos. Os DMARDs biológicos são fármacos mais recentes, que constituem uma alternativa à ausência de resposta aos fármacos clássicos verificada em alguns pacientes. Têm modos de ação que têm como objetivo diminuir a inflamação, através da inibição dos recetores de interleucina-6 (IL-6), da inibição dos fatores de necrose tumoral alfa (TNF- α), da depleção de linfócitos B e da inibição da co estimulação de células T.

Os TNF- α são citocinas que provocam a apoptose de células tumorais e estimulam a resposta inflamatória, pelo que a sua inibição diminui a inflamação sistêmica. Os inibidores destas citocinas foram os primeiros DMARDs biológicos aprovados para o tratamento da artrite reumatoide. Atualmente estão aprovados cinco fármacos: etanercept, infliximab, adalimumab, certolizumab pegol e golimumab.

Nesta monografia apresentam-se capítulos introdutórios ao tema, incluindo as características da patologia, o diagnóstico, e o tratamento, entre outros. Segue-se a apresentação das características dos inibidores de TNF- α aprovados pela Agência Europeia dos Medicamentos (EMA) e das perspectivas futuras desta classe de fármacos no tratamento da artrite reumatoide.

Palavras-chave: artrite reumatoide, inibidores dos TNF- α , tratamento, fisiopatologia, etiologia, medicamentos biológicos.

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory autoimmune disease, in which the main characteristic is inflammation of the synovial membranes, which causes pain, swelling, joint stiffness and limitation of movement. Its evolution causes joint deformation and, consequently, possible locomotor disability. Other tissues can also be affected, such as the lungs, heart and eyes.

Early diagnosis and treatment are essential to slow down the evolution of the pathology. Several classes of drugs are available that can be used in its treatment, but only disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) may prevent joint damage and deformation. These are classified as synthetic/classic or biological. Biological DMARDs are more recent drugs, which are an alternative to the non-response to classic drugs that happens in some patients. They act by mechanisms of action that aim to reduce inflammation, including interleukin-6 receptors blockade (IL-6), alpha tumor necrosis factors (TNF- α) blockade, depletion of B lymphocytes and T cell co-stimulation inhibition.

TNF- α are cytokines that cause tumor cell apoptosis and stimulate the inflammatory response. Thus, their inhibition decreases systemic inflammation. Inhibitors of these cytokines were the first biologic DMARDs approved for the treatment of rheumatoid arthritis. Currently, five drugs are approved: etanercept, infliximab, adalimumab, certolizumab pegol and golimumab.

This monograph contains introductory chapters to the subject, including the characteristics of the pathology, diagnosis, treatment, among others, and the presentation of the characteristics of TNF- α inhibitors approved by the European Medicines Agency (EMA) and the future perspectives of this class of drugs in the treatment of rheumatoid arthritis.

Keywords: rheumatoid arthritis, TNF- α inhibitors, treatment, physiopathology, etiology, biologic drugs.

Índice

Resumo.....	ii
Abstract.....	iii
Índice de figuras.....	vi
Índice de tabelas.....	vii
Lista de abreviaturas.....	viii
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	2
3. Artrite reumatoide.....	3
3.1 História.....	3
3.2 Prevalência.....	3
3.3 Características.....	4
3.4 Diagnóstico.....	5
3.5 Fisiopatologia.....	7
3.6 Fatores de risco.....	9
3.6.1 <i>Fatores ambientais</i>	9
3.6.2 <i>Fatores genéticos</i>	10
4. Tratamento.....	10
4.1 Tratamento farmacológico.....	10
4.2 Fitoterapia.....	12
4.3 Medidas não farmacológicas.....	14
5. Inibidores dos TNF-α.....	15
5.1 Função fisiológica dos TNF- α	15
5.2 Função fisiopatológica dos TNF- α na artrite reumatoide.....	16
5.3 TNF- α , tecido adiposo e exercício físico.....	16
5.4 TNF- α e gravidez.....	17
5.5 Fármacos anti-TNF- α	18
5.5.1 Etanercept (Enbrel®).....	23
5.5.2 Infliximab (Remicade®).....	27
5.5.3 Adalimumab (Humira®).....	29
5.5.4 Certolizumab pegol (Cimzia®).....	32
5.5.5 Golimumab (Simponi®).....	34
5.6 Medicamentos biossimilares.....	36

6. Tecnologia de DNA recombinante	37
7. Novas abordagens no tratamento da AR, por inibição dos TNF-α.....	39
8. Conclusão	43
9. Bibliografia.....	44

Índice de figuras

Figura 3.1. Processos fisiopatológicos envolvidos na AR.....	8
Figura 5.1. Mecanismos de ação dos inibidores dos TNF- α	19
Figura 5.1. Estrutura do etanercept.....	23
Figura 5.2. Estrutura do infliximab.....	27
Figura 5.3. Estrutura do adalimumab.....	30
Figura 5.4. Estrutura do certolizumab pegol.....	32
Figura 5.5. Estrutura do golimumab.....	34

Lista de tabelas

Tabela 3.1: Critérios de classificação da EULAR/ACR.....	6
Tabela 5.1: Caraterísticas gerais dos inibidores dos TNF- α	22

Lista de siglas

ACR – American College of Rheumatology (Faculdade Americana de Reumatologia)

ADAs – Anti-drug antibodies (anticorpos anti-fármaco)

ADCC – Antibody dependent cellular cytotoxicity (citotoxicidade celular dependente de anticorpos)

AINEs – Anti-inflamatórios não esteroides

Anti-CCP – Anti-cyclic citrullinated peptide (anticorpo anti-péptido citrulinado)

APCs – Antigen presenting cells (células apresentadoras de antígeno)

AR – Artrite reumatoide

bDMARDs – Biological Disease Modifying Anti-rheumatic drugs (fármacos modificadores do curso da doença biológicos)

CDC – Citotoxicidade dependente de células

csDMARDs – Conventional synthetic Disease Modifying Anti-rheumatic drugs (fármacos modificadores do curso da doença convencionais)

DMARDs – Disease Modifying Anti-rheumatic Drugs (fármacos modificadores do curso da doença)

EMA – European Medicine Agency (Agência Europeia de Medicamentos)

EULAR – European League Against Rheumatism (Liga Europeia Contra o Reumatismo)

Fc – Fragmento cristalizável

FDA – Food and Drug Administration (Administração de Alimentos e Medicamentos)

FLS – Fibroblast Like Synoviocytes (fibroblastos semelhantes a sinoviócitos)

FR – Fator reumatoide

HLA-DR - Isótopo do recetor do antígeno leucocitário humano

ICC – Insuficiência cardíaca congestiva

IgG1 – Imunoglobulina G1

IL-1 – Interleucina 1

IL-6 – Interleucina 6

IL-10 – Interleucina 10

IL-17 – Interleucina 17

JAK – Janus kinase (Janus cinase)

MHC – Major histocompatibility complex (complexo de histocompatibilidade major)

MTX – Metotrexato

NF- κ B – Nuclear Factor κ B (fator nuclear κ B)

NK – Natural *killers*

PAD – Peptidil-arginina deaminase

PEG – Polietilenoglicol

PTPN22 – Protein Tyrosine Phosphatase non-receptor Type 22 (proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 22)

RANKL – Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand (ligando do recetor ativador do fator nuclear κ B)

SE – Shared Epitope (epítipo partilhado)

sTNF- α – TNF- α solúveis

TACE – TNF Alpha Converting Enzyme (enzima conversora de TNF alfa)

tmTNF- α – TNF- α transmembranares

TNF- α – Fatores de necrose tumoral alfa

TNFR1 – Recetor TNF tipo 1

TNFR2 – Recetor TNF tipo 2

T_{regs} – Linfócitos T reguladores

tsDMARDs – Target Specific Disease Modifying Anti-rheumatic Drugs (fármacos modificadores do curso da doença alvo específicos)

1. Introdução

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune inflamatória crónica, que tem como principal característica a inflamação das membranas sinoviais articulares, o que origina dor, tumefação, rigidez articular perda de função/limitação do movimento. A sua evolução causa deformação articular e, conseqüentemente, eventual incapacidade locomotora. Por ser uma patologia sistémica, pode afetar também outros órgãos como os olhos, coração, pulmões e pele (1).

Atualmente, não é conhecido nenhum tipo de prevenção para a AR, mas o diagnóstico precoce e um tratamento adequado são fatores de grande importância na prevenção da evolução da doença, e conseqüentemente, dos danos articulares e comorbilidades associadas (2).

Estão disponíveis várias classes de fármacos que podem ser utilizadas no tratamento da AR, porém apenas os fármacos modificadores do curso da doença (DMARDs, do inglês, *Disease-modifying antirheumatic drugs*) previnem a danificação e deformação articular. A utilização dos DMARDs é recomendada para a prevenção de danos articulares e controlo dos sintomas, pelo que devem ser instituídos quando estabelecido o diagnóstico, evolução e gravidade da patologia (2).

Os estudos da patogénese da AR permitiram aumentar o conhecimento sobre esta patologia nos últimos anos e o desenvolvimento de DMARDs biológicos, para atuação em elementos específicos responsáveis pela resposta inflamatória. Estes fármacos constituem uma alternativa à ausência de resposta aos fármacos clássicos, verificada em alguns pacientes (3).

As citocinas são proteínas com propriedades imunomoduladoras que participam na resposta imunitária e atuam por ligação a recetores presentes nas células alvo. Esta ligação induz cascatas de sinalização que provocam a diferenciação, proliferação e ativação das células alvo, que, por sua vez, vão produzir um efeito biológico. A desregulação da produção das citocinas ou a ativação crónica das vias de sinalização induzidas por estas, podem conduzir a patologias autoimunes e cancro (4,5).

Os fatores de necrose tumoral alfa (TNF- α) são citocinas pró-inflamatórias, responsáveis pela mediação da resposta inflamatória e imune, e conduzem a apoptose ou necrose celular. A compreensão do mecanismo de sinalização destas citocinas permitiu desenvolver alternativas terapêuticas eficazes para patologias como a AR (6).

Os inibidores dos TNF- α foram os primeiros fármacos biológicos a serem aprovados para o tratamento da AR, em 1999 (3).

2. Objetivos

As patologias autoimunes, como a AR, apresentam mecanismos fisiopatológicos complexos, que ainda não são compreendidos por completo, e por consequência, não sendo ainda possível estabelecer uma cura desta patologia. A evolução do conhecimento científico nas últimas décadas permitiu a descoberta de alternativas terapêuticas biológicas inovadoras e eficientes, permitindo a manutenção de uma qualidade de vida significativamente melhor para muitos pacientes. Os primeiros fármacos biológicos utilizados na AR foram os inibidores dos TNF- α que, muitas vezes, são a primeira opção considerada quando é feita a seleção de um fármaco biológico. A presente monografia tem como objetivo compreender aspectos principais e relevantes para a área terapêutica, através do conhecimento obtido até o presente. Por essa razão, aborda as características e os aspectos clínicos da doença e o seu tratamento geral, com ênfase nos TNF- α e nos seus inibidores, apresentando também novas moléculas e estratégias de inovação terapêutica que poderão originar novos inibidores e, portanto, mais opções terapêuticas.

Outro objetivo da monografia consiste na apresentação das características dos inibidores de TNF- α aprovados pela Agência Europeia dos Medicamentos (EMA) e das perspectivas futuras destes fármacos no tratamento da artrite reumatoide.

3. Artrite reumatoide

3.1 História

A AR foi definida como uma nova patologia no ano de 1800, por Augustin-Jacob Landré-Beauvais, na sua tese de doutoramento. Foi descrita como um novo tipo de gota, uma doença crónica flutuante poliarticular, em mulheres com aspeto debilitado, que levava à limitação progressiva de movimentos, que Augustin designou por gota asténica primária (7).

Durante vários anos a AR teve a designação de gota reumática, até que, em 1859, Alfred Garrod introduziu a designação artrite reumatoide (8).

Anteriormente, em 1676, Thomas Sydenham descreveu uma patologia que se pensa ser a AR, em que refere um reumatismo que se diferencia de gota pela sua recorrência e pela incapacitação dos pacientes. Descreveu também os dedos de um paciente, o que se reconhece agora como sendo deformidade em “pescoço de cisne”, que pode ocorrer na AR (9).

Antes destes registos médicos, já se vinha a notar a presença de pacientes com AR através de pinturas e esqueletos humanos. Nos anos 1500s e 1600s, vários pintores fizeram retratos de pessoas, em que pintavam pormenores como deformidades nas mãos de alguns indivíduos, aparentando ser inflamações simétricas e nódulos reumatoides. Em restos de esqueletos humanos, entre os quais esqueletos datados do período antes de Cristo, foram observadas lesões coincidentes com AR, por exemplo, no Museu Nacional de Antropologia do México, estão expostos 21 esqueletos, de diferentes épocas, que apresentam lesões erosivas simétricas e poliarticulares, diferentes da erosão causada pelo tempo, na superfície articular de mãos e pés. Não sendo o conhecimento médico da altura o mesmo de hoje, não é possível definir uma data de descoberta da AR pelos registos médicos, mas outras evidências parecem indicar que a AR é uma doença muito antiga (10-12).

3.2 Prevalência

A frequência da patologia é duas a quatro vezes maior em mulheres do que em homens. A prevalência da AR em Portugal é estimada em 0,5-0,9% da população geral, sendo que

a prevalência no sexo feminino é de 0,8-1,5%, enquanto no sexo masculino é de 0,1-0,4%. A maior parte destas mulheres é afetada após a menopausa, mas a AR pode surgir em pessoas de todas as idades (13).

A nível mundial, é estimado que cerca de 0,24% da população é afetada por AR, num total de, aproximadamente, 18 milhões de pessoas (14,15).

3.3 Características

A principal manifestação da AR é a inflamação das membranas sinoviais articulares, que origina dor, tumefação, rigidez articular, perda de função e limitação dos movimentos.

As articulações afetadas pela AR são as revestidas pela membrana sinovial (diartrodiais), com maior incidência nas pequenas articulações das mãos e dos pés, mas a AR pode afetar também as articulações dos tornozelos, punhos, cotovelos, ombros, joelhos, ancas e a primeira articulação cervical. A AR apresenta, como característica principal, a simetria de afeção das articulações, ou seja, se uma articulação do lado esquerdo do corpo estiver afetada, a correspondente do lado direito também estará. Os tendões, sendo envolvidos por bainhas constituídas por membranas sinoviais, podem igualmente sofrer inflamação (2).

Outros sintomas incluem fadiga, febre, dores no corpo, e o aparecimento de nódulos reumatóides – nódulos duros subcutâneos que habitualmente ocorrem em articulações mais sujeitas a trauma, como as dos dedos das mãos e pés, e as dos cotovelos, podendo surgir também nos pulmões e cordas vocais (16).

É comum o aparecimento concomitante de outras patologias autoimunes, como a síndrome de Sjögren secundária, caracterizada pela inflamação mais frequente das glândulas lacrimais e salivares, que se manifesta por secura nas mucosas, principalmente oral (a redução ou ausência de fluxo salivar é designada por xerostomia) e ocular (2).

Além disso, outras patologias parecem ter uma forte associação com a AR, como a diabetes e as doenças cardiovasculares. O processo inflamatório sistémico presente na AR, e que envolve vários mediadores inflamatórios, como os TNF- α e a IL-6, pode contribuir para a aterosclerose e desregulação metabólica, com disfunção das células beta (que secretam insulina), e que pode levar à resistência à insulina (17,18). Os pacientes

com AR também apresentam uma elasticidade vascular significativamente menor que a dos indivíduos saudáveis, o que pode comprometer a função vascular. Este efeito parece ser inversamente proporcional aos níveis dos marcadores de inflamação, reforçando novamente a importância do controle da inflamação (19).

Os pacientes com AR parecem ter uma maior probabilidade de desenvolver cancro. A razão não está completamente esclarecida, mas presume-se que o processo inflamatório crónico contribua para a situação, por poder aumentar a proliferação celular. Nesta situação, e apesar dos TNF- α também apresentarem ação anti tumoral, estes compostos têm sido associados à carcinogénese devido à sua participação nas vias inflamatórias (20,21).

A AR exerce um impacto negativo no quotidiano dos pacientes, com interferência a nível físico e emocional, estando a depressão frequentemente associada à AR, aos piores prognósticos do curso da doença e a uma menor hipótese de remissão da atividade da doença. Além disso, parece haver correlação entre os sintomas de depressão e o aumento de citocinas pró-inflamatórias, ocorrendo uma resposta inflamatória crónica de baixo grau. No entanto, a questão não está totalmente compreendida e continuam a ser necessários mais estudos (22,23).

3.4 Diagnóstico

Na fase inicial da doença, o diagnóstico da AR pode ser difícil. Os sintomas e a sua gravidade variam entre indivíduos, e podem ser semelhantes aos que ocorrem em outras patologias, que têm que ser excluídas. De forma geral, o diagnóstico é feito através da avaliação da sintomatologia e de exames laboratoriais (24).

O fator reumatoide (FR) e os anticorpos contra os péptidos citrulinados cíclicos (anti-CCP, do inglês, *anti-Cyclic Citrullinated Peptide*) são autoanticorpos e são os parâmetros avaliados para auxiliar o diagnóstico da AR. O FR está presente em cerca de 40% dos doentes que se encontram na fase inicial da doença, e podem estar presentes em cerca de 80% dos doentes, quando estão já em fases mais tardias da doença. No entanto, este fator não apresenta elevada especificidade, pois pode estar presente em indivíduos saudáveis, normalmente idosos. Além disso, pode ser identificado em doentes com outras patologias, e pode estar ausente em alguns indivíduos com AR. Por outro lado, a especificidade dos anticorpos anti-CCP é maior, e de grande auxílio no diagnóstico diferencial da AR. A sua

presença está relacionada com maior progressão da doença e com os danos causados (25-28). A AR pode ser classificada como soropositiva (FR e/ou anti-CCP positivos) e soronegativa (na ausência dos mesmos), sendo que a forma positiva pode ser mais intensa e difícil de tratar (29).

A velocidade de sedimentação eritrocitária e a proteína C reativa não são testes específicos para AR, mas são marcadores inflamatórios que podem auxiliar o diagnóstico, permitindo avaliar o grau de inflamação e, portanto, a atividade da doença (30).

A EULAR (do inglês, *European League Against Rheumatism*) e a ACR (do inglês, *American College of Rheumatology*) estabeleceram critérios de classificação para a AR, utilizando um sistema de pontuação, em que valores entre 6 a 10 são indicadores de que o doente é portador de AR (tabela 3.1) (24,31).

Tabela 3.1: Critérios de classificação da EULAR/ACR. Adaptado de 31.

<i>Critério</i>	<i>Pontuação</i>
<i>Envolvimento articular</i>	
<i>1 grande articulação</i>	0
<i>2-10 grandes articulações</i>	1
<i>1-3 pequenas articulações</i>	2
<i>4-10 pequenas articulações</i>	3
<i>>10 articulações (incluindo pelo menos uma pequena)</i>	5
<i>Serologia</i>	
<i>FR e anti-CCP negativos</i>	0
<i>FR e anti-CCP baixos</i>	2
<i>FR e anti-CCP elevados</i>	3
<i>Duração dos sintomas</i>	
<i><6 semanas</i>	0
<i>≥ 6 semanas</i>	1
<i>Reagentes de fase aguda</i>	
<i>Proteína c reativa e velocidade de sedimentação normais</i>	0
<i>Proteína c reativa ou velocidade de sedimentação anormais</i>	1

FR – Fator reumatoide, anti-CCP – anticorpo anti-péptido citrulinado.

3.5 Fisiopatologia

A fisiopatologia da AR é complexa e ainda não totalmente conhecida, embora existam alguns processos propostos. Os processos imunológicos podem começar vários anos antes do paciente apresentar sintomas inflamatórios, o que constitui uma fase pré-AR (32).

As modificações epigenéticas que podem ocorrer, por exemplo devido ao tabaco, podem levar a modificações pós-tradução de proteínas com arginina, como o colagénio tipo II, imunoglobulinas G, histonas, fibrina e vimentina, entre outras. Estas proteínas podem ser citrulinadas pela enzima peptidil-arginina desaminase, que substitui o resíduo de arginina por citrulina (29). Um recetor celular do tipo HLA-DR (Isótopo do recetor do antígeno leucocitário humano) é um recetor de membrana de classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *Major Histocompatibility Complex*). Estes tipos de recetores apresentam duas cadeias, alfa e beta, e estão presentes em células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês, *Antigen Presenting Cells*). Têm como função a apresentação de antígenos exógenos às células T, originando uma resposta imunitária. Os recetores HLA-DR1 das APCs parecem ter grande afinidade para a citrulina, pelo que migram e apresentam fragmentos dessas moléculas como antígenos a linfócitos T_{helper} CD4⁺ nos nódulos linfáticos, iniciando a autoimunidade. No nódulo linfático, os linfócitos B são ativados por co estimulação dos linfócitos T, proliferam e diferenciam-se em plasmócitos que produzem autoanticorpos, como o FR e os anti-CCP e libertam citocinas (33,34).

Os autoanticorpos formam complexos com antígenos citrulinados e anticorpos do hospedeiro, que migram para o fluido sinovial, promovendo a inflamação pela estimulação do sistema do complemento e produção de interleucina 17 (IL-17) pelos linfócitos T, que por sua vez estimulam a resposta imunitária de macrófagos e neutrófilos (33,35). A presença de neutrófilos no fluido sinovial conduz à formação de radicais livres e de proteases, que também danificam a articulação e o osso. Os macrófagos, que também migram para o fluido sinovial e libertam citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e os TNF- α , mantêm o processo inflamatório, induzem a produção de moléculas de adesão em células endoteliais e estimulam a atividade dos sinoviócitos semelhantes a fibroblastos (FLS, do inglês, *Fibroblast Like Synoviocytes*) e osteoclastos (32,36). Os FLS produzem metaloproteinases, que podem degradar a

cartilagem e que estimulam o ligando do recetor ativador do fator nuclear kB (RANKL, do inglês, *Receptor Activator of Nuclear Factor kB Ligand*), o que permite a ligação dos linfócitos T à superfície dos osteoclastos, aumentando a sua atividade, e potenciando a destruição óssea e articular. As moléculas de adesão caderinas permitem aos FLS migrar e invadir os tecidos vizinhos, o espaço articular e ósseo, o que contribui para a destruição articular e óssea e explica a simetria de afeção de articulações característica desta patologia (32,37).

Na membrana sinovial também se encontram os fatores de crescimento vasculares, que promovem a angiogénese em redor das articulações, e, juntamente com as moléculas de adesão, facilitam a migração dos leucócitos. Com o tempo, a patologia progride, sucessivamente, para maior dano articular e ósseo, pelo que o diagnóstico precoce e um tratamento adequado são essenciais para diminuir a extensão do dano ocorrido (Figura 3.1) (37,38).

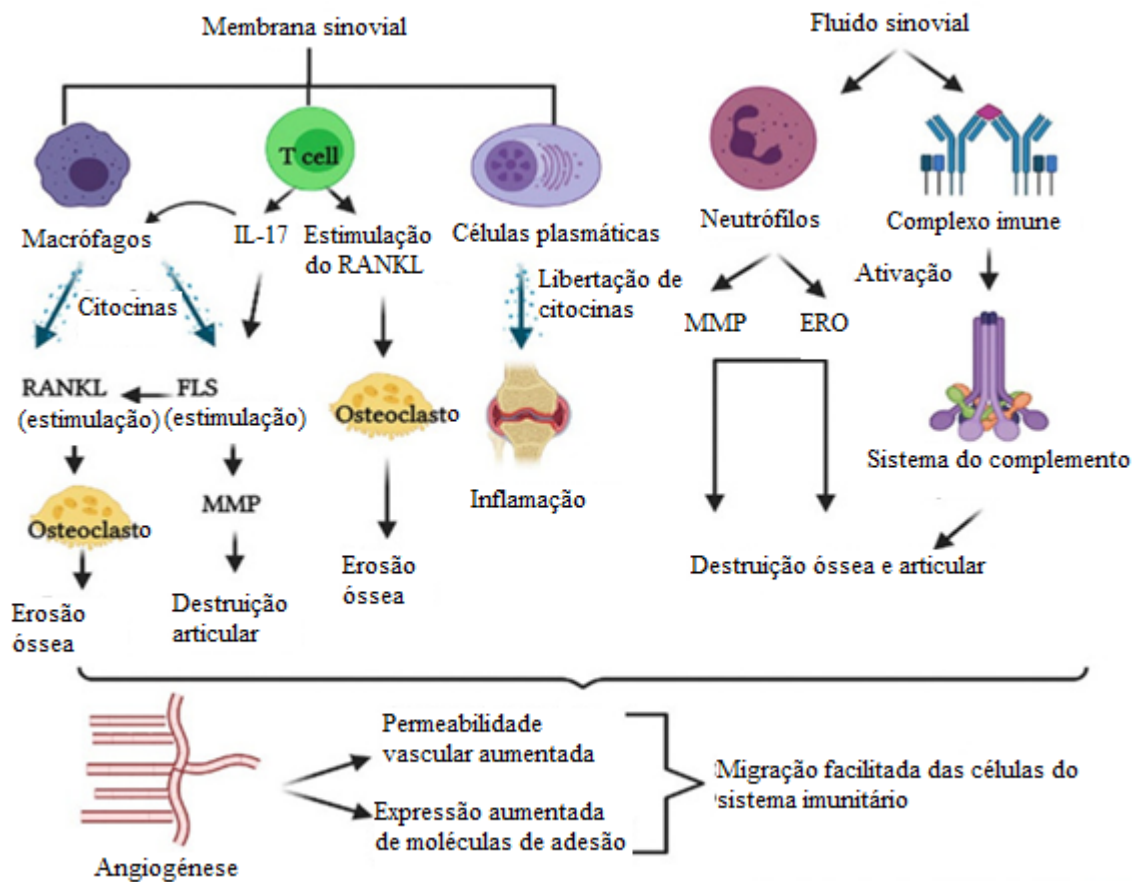


Figura 3.1: Processos fisiopatológicos envolvidos na AR. ERO – espécies reativas de oxigénio, FLS – fibroblastos semelhantes a sinoviócitos, IL-17- interleucina 17, MMP- metaloproteínases da matriz, RANKL - ligando do recetor ativador do fator nuclear kB. Adaptado de 39.

3.6 Fatores de risco

Sendo a AR uma doença autoimune, isso significa que o sistema imunitário do doente não está a funcionar adequadamente, mas a causa dessa desregulação do sistema imunitário é ainda desconhecida. No entanto, até à data já foram identificados alguns fatores de risco, genéticos e ambientais. As interações entre diferentes fatores de risco associados à existência de predisposição genética parecem ser as principais causas do processo fisiopatológico da AR (40).

3.6.1 *Fatores ambientais*

O tabaco é o fator de risco, de natureza ambiental, de maior relevância. O risco varia consoante o número de cigarros fumados diariamente e a duração do hábito, mas independentemente disso, o risco de ocorrência da AR nos fumadores é sempre mais elevado do que nos não fumadores, e persiste mesmo após vários anos de cessação. Este fator está associado à ocorrência de modificações epigenéticas e à produção de autoanticorpos que são encontrados na maioria dos pacientes, em que se incluem o fator reumatoide (FR) e os anticorpos contra péptidos citrulinados cíclicos (anti-CCP) (29).

Conduzindo à produção de anticorpos anti-CCP, em pacientes diagnosticados com AR, o tabagismo também está relacionado com maior atividade da doença e, assim, com maior dano articular, mais manifestações extra-articulares, e aumento do risco cardiovascular para estes pacientes (que, normalmente, já é elevado). A interferência ocorre também no tratamento, pois a resposta ao metotrexato e os inibidores dos TNF- α (fármacos amplamente utilizados no tratamento da AR), é menos eficaz (41).

O microbioma é o conjunto de microrganismos que existem em simbiose no ser humano. A sua composição é influenciada pela dieta e desempenha um papel importante no sistema imunitário e no controlo da inflamação. Estudos recentes referem a possibilidade de também ser um fator de risco para a AR (42). A microbiota dos pacientes com a AR apresenta menor diversidade, em comparação com a de indivíduos saudáveis. As espécies de *Prevotella Copri* e *Collinsella aerofaciens* são exemplos de bactérias presentes em grande abundância em indivíduos em fase pré-AR, ou que não estão a fazer tratamento com DMARDs. Em modelos animais, estas bactérias provocam respostas inflamatórias, com agravamento da artrite, previamente induzida. No geral, em pacientes com AR

controlada farmacologicamente, o microbioma torna-se parcialmente normalizado, e estas espécies são pouco abundantes. A informação acerca deste tema ainda é limitada e é necessário dar continuidade aos estudos para estabelecer este fator como um risco concreto para desenvolver AR (40,43).

3.6.2 Fatores genéticos

O epítipo partilhado (EP) é uma sequência de cinco aminoácidos presentes na cadeia beta do recetor celular do tipo HLA-DR. A codificação genética do EP resulta da presença de alelos específicos para o HLA-DRB1 - um gene pertencente a uma família de genes do MHC classe II. A presença do EP aumenta significativamente o risco de desenvolvimento da AR (41). Além disso, foi verificada uma interação entre ser portador do EP e o tabagismo. Indivíduos com 2 cópias do EP apresentam maior risco de desenvolver AR, e este risco torna-se bastante superior no portador fumador (41,44).

Um polimorfismo no nucleótido 1858 (substituição de citosina por timina) do gene PTPN22 (do inglês, *Protein Tyrosine Phosphatase Non-receptor Type 22*) também pode estar relacionado com a etiologia da AR e tem vindo a ser associado a doentes soropositivos. O gene codifica uma proteína envolvida na regulação da ativação dos linfócitos B e T e que interage com a enzima responsável pela citrulinização, a peptidil-arginina deaminase (PAD). O mecanismo de ação ainda não é conhecido, mas existe a hipótese de ocorrer por hipercitrulinização de proteínas, devido à desregulação da interação com a PAD (40).

4. Tratamento

4.1 Tratamento farmacológico

Não existindo uma terapêutica que permita curar a AR, o objetivo dos tratamentos é controlar a sintomatologia e abrandar a progressão da doença, podendo, eventualmente, induzir a sua remissão. Desta forma é possível prevenir/diminuir as alterações articulares, atrasar o dano articular e a consequente incapacitação, e permitir ao doente

manter as suas funções diárias. O dano pode ocorrer desde o princípio da doença e não é reversível, pelo que o tratamento precoce e eficaz é fundamental (2,45).

Atualmente existe uma grande variedade de fármacos utilizados para tratar a AR. Os **anti-inflamatórios não esteroides** (AINEs) não atrasam a progressão da doença, mas são usados para controlo dos sintomas, pelas suas propriedades analgésicas e anti-inflamatórias, melhorando a rigidez articular e a dor. A sua atuação decorre por inibição da síntese de prostaglandinas. Quando o controlo da dor não é suficiente, podem ser utilizados outros medicamentos analgésicos, como o paracetamol, ou, em crises mais intensas, analgésicos do tipo opioide (2,46).

Os **corticosteroides** podem ser usados como adjuvantes terapêuticos, pelas suas propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras. O seu uso oral pode ser de duração curta, para controlo de dor e inflamação até se obterem os efeitos dos DMARDs, ou de longa duração na dose mínima eficaz para evitar os efeitos adversos, em casos de patologia de difícil controlo. Doses orais mais altas durante vários dias, ou administração injetável destes fármacos podem ser úteis para controlar fases de exacerbação da patologia. O seu modo de ação inclui a inibição da síntese de prostaglandinas e leucotrienos, a inibição de formação de radicais livres pelos neutrófilos, e interferência na apresentação de antígenos aos linfócitos T (46,47).

Os **DMARDs** (*Fármacos Modificadores de Doença Reumática*) são utilizados para diminuir a progressão da doença e para aliviar a sintomatologia. Podem ser usados DMARDs do tipo sintético convencional (csDMARDs, do inglês, *conventional synthetic disease modifying rheumatic drugs*), alvo-específicos (tsDMARDs, do inglês, *target specific disease modifying rheumatic drugs*) e biológicos (bDMARDs, do inglês, *biologic disease modifying rheumatic drugs*) (45).

Os **csDMARDs** são os fármacos de primeira linha no tratamento da AR, sendo os mais comuns o metotrexato (MTX), a hidroxicloroquina, a sulfassalazina e a leflunomida. O seu efeito apenas se faz sentir ao fim de algumas semanas ou meses de tratamento. O MTX, em monoterapia, ou em associação com outros DMARDs, é frequentemente a primeira escolha pois apresenta melhores resultados, a longo prazo, em comparação com outros DMARDs, e tem um custo muito inferior aos bDMARDs (45,47).

O tofacitinib, o baricitinib, o filgotinib e o upadacitinib são fármacos recentemente aprovados para tratamento da AR que pertencem ao grupo dos **tsDMARDs**, sendo inibidores da JAK (do inglês, *janus kinases*), uma tirosina cinase responsável pela regulação da maturação e ativação dos leucócitos, e que também exerce efeito na produção de imunoglobulinas e citocinas envolvidas nas vias de sinalização dependente da JAK. São utilizados em doentes sem resposta adequada ao MTX, tendo a vantagem de poderem ser administrados por via oral, em monoterapia ou em associação com outros DMARDs não biológicos (45,47).

Os **bDMARDs** são alternativas terapêuticas quando outros DMARDs não funcionam. São mais dispendiosos e administram-se na forma injetável. Os seus alvos são moléculas específicas ou vias de sinalização envolvidas nos processos inflamatórios da AR, como diferentes interleucinas, os TNF- α e proteínas expressas na superfície celular. Dentro deste tipo de fármaco existem subclasses, de acordo com os modos de ação, que são: 1) *inibidores de interleucinas* (ex.: tocilizumab), 2) *depletoras de linfócitos B* (ex.: rituximab), 3) *inibidores da co estimulação de linfócitos T* (ex.: abatacept) e 4) *inibidores dos TNF- α* (ex.: adalimumab) (47,48).

Os inibidores dos TNF- α foram a primeira classe de fármacos biológicos aprovados para o tratamento da AR, que proporcionaram uma alternativa eficaz e importante no tratamento. Por terem sido aprovados há mais tempo do que as outras classes de medicamentos biológicos para o tratamento da AR, existe mais informação sobre os mesmos. Estes constituem, muitas vezes, a primeira escolha de biológicos para o tratamento dos pacientes (47,48).

Em casos graves, em que a terapia farmacológica não é suficiente, podem ser necessários procedimentos adicionais, como a reparação de tendões e/ou a substituição articular (2).

4.2 Fitoterapia

Alguns compostos fitoterápicos parecem poder auxiliar no tratamento da AR, contribuindo para o alívio dos sintomas e para a diminuição da inflamação. Embora sejam necessários mais estudos para estabelecer a sua segurança e eficácia, alguns compostos mostram benefícios potenciais, como a curcumina, a *Tripterygium Wilfordii Hook F* (Videira Trovão de Deus) e o ácido gama-linoleico (49,50).

A **curcumina** é um dos três curcuminoides presentes no açafrão (*Curcuma longa*), e o mais ativo. É utilizada há muito tempo no tratamento de condições inflamatórias na medicina oriental e, recentemente, tem sido estudada pelo potencial anticancerígeno, anticoagulante, antimicrobiano e antioxidante. Parece ser capaz de diminuir a inflamação, através da inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo os TNF- α , e da modulação da diferenciação e função dos linfócitos B e T. Essas propriedades imunomoduladoras poderão ser benéficas para aplicação no tratamento da AR (49).

A *Tripterygium wilfordii Hook F* é uma planta originária da China. É utilizada há centenas de anos para tratar várias doenças autoimunes e inflamatórias, incluindo a AR. Extratos desta planta inibem respostas inflamatórias e atuam como imunossupressoras, por diminuição da proliferação de linfócitos B e T. No entanto, apresentam também efeitos adversos, sendo os mais comuns os distúrbios do sistema gastrointestinal, com resolução após interrupção do tratamento (50).

Os componentes responsáveis pelo efeito terapêutico são diterpenóides presentes na planta, o triptolide e triptiolide, que têm um efeito sinérgico. Em pacientes com AR, o tratamento parece ser bem tolerado e mais eficiente do que o placebo, apresentando melhoria de sintomas, função física e decréscimo dos valores de proteína C reativa e velocidade de sedimentação eritrocitária (51).

O **ácido gama-linoleico** é um ácido gordo essencial (ômega 6) que está presente no óleo de prímula, óleo de borragem e óleo de groselha negra. É metabolizado em ácido dihomogama-linolenico, precursor da prostaglandina E1, com propriedades anti-inflamatórias e imunorreguladoras. O seu mecanismo de ação parece incluir a diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , e a inibição da proliferação dos linfócitos T. Em pacientes com AR, o ácido gama-linoleico parece diminuir a sinovite e a intensidade da dor, assim como diminuir a atividade da doença, pelo que pode ter uso potencial em AR (52,53).

4.3 Medidas não farmacológicas

As medidas não farmacológicas também são importantes e aconselhadas para a melhoria dos sintomas e manutenção da função articular. A redução (total ou parcial) do consumo de tabaco é muito importante, tal como, no caso dos pacientes obesos, a redução de peso, para evitar sobrecarga nas articulações e para prevenir o desgaste articular, e evitar comorbidades. O repouso é importante, sempre que o doente considere necessário, mas deve ser intercalado com atividade física. A prática de exercício físico deve ser feita com regularidade e deve ser devidamente ajustada à condição física e atividade da doença; idealmente, deve incluir exercícios do tipo aeróbico e de fortalecimento muscular, para melhorar a função do sistema cardiorrespiratório e o suporte articular (2,45,54).

A terapia ocupacional e a fisioterapia podem contribuir para melhorar a mobilidade e força muscular que podem estar comprometidas devido à redução das atividades diárias ou à imobilização de alguma articulação. Tal como acontece com o exercício, fortalecer os músculos através destes tipos de terapia pode aumentar a estabilidade das articulações e prevenir lesões. A massagem e/ou a aplicação de ultrassom nas zonas afetadas pode ajudar a diminuir a dor e o inchaço articular. A utilização de aparelhos auxiliares, como bengalas ou assentos de sanita elevados, pode contribuir para reduzir a carga nas articulações e aumentar a independência e o bem-estar diário dos doentes (55,56).

Como mencionado anteriormente, a depressão pode diminuir a qualidade de vida dos doentes com AR e diminuir a probabilidade de resultados positivos no tratamento. Foi reportado que a terapia cognitiva e comportamental e a prática de *mindfulness* (atenção plena) parecem ser eficazes na diminuição do stress causado pela patologia e na forma como lidar com a dor e a doença (57).

5. Inibidores dos TNF- α

5.1 Função fisiológica dos TNF- α

Os TNF- α são citocinas pró-inflamatórias que participam nos processos de homeostase, imunidade, sobrevivência celular e apoptose. Por este motivo, têm uma ação importante na inibição tumoral e na defesa contra infecções. A sua produção ocorre, maioritariamente, nos macrófagos ativados, podendo também ser produzidos pelas células natural-killers (NK) e linfócitos T, por exemplo (6,58).

Os TNF- α podem estar na forma solúvel (sTNF- α), ou transmembranar (tmTNF- α), sendo ambas biologicamente ativas na forma de homotrímeros. Os tmTNF- α são precursores dos sTNF- α , que são libertados através de clivagem pela ação da enzima conversora de TNF- α (TACE, do inglês, *TNF Alpha Converting Enzyme*). A sinalização desencadeada pelos TNF- α ocorre por ligação a dois tipos de recetores membranares, TNFR1 e TNFR2 (do inglês, *Tumor Necrose Factor Receptor*), também designados por p55 e p75, respetivamente. Os TNFR1 são os principais recetores para a ação dos TNF- α , e são expressos na maioria das células. Têm maior afinidade pelos sTNF- α e desencadeiam apoptose e resposta inflamatória, com recrutamento de leucócitos, e produção de outras citocinas e quimiocinas. Os TNFR2 têm maior afinidade pelos tmTNF- α e são expressos, maioritariamente, em células do sistema imunitário, participando principalmente na regeneração tecidual, na sobrevivência celular e resposta a infeções, com menor participação do que os TNFR1 nos processos inflamatórios (6,59). Os recetores membranares também podem ser clivados proteoliticamente, originando formas solúveis dos recetores, que se podem ligar aos TNF- α , exercendo uma forma de regulação da resposta celular aos TNF- α por *feedback* negativo, pelo seu efeito inibitório desta citocina, que assim não se liga aos recetores membranares (60,61).

A ligação dos TNF- α aos recetores membranares induz a sua trimerização, a sua ativação e, conseqüentemente, a formação de diferentes complexos de sinalização que, por sua vez, podem originar diversas respostas. Após a ligação aos recetores, os TNF- α estimulam a produção do fator nuclear kB (NF-kB, do inglês, *Nuclear Factor kB*), que vai induzir a produção de várias proteínas envolvidas nas respostas inflamatória e

imunitária, e que são responsáveis pelas principais funções fisiológicas dos TNF- α na AR (6).

5.2 Função fisiopatológica dos TNF- α na artrite reumatoide

Os TNF- α desempenham um papel importante na patogênese da AR, assim como na manutenção da inflamação, e na destruição óssea, pelo aumento da produção dos precursores dos osteoclastos e pela sua ativação, e por estimulação do RANKL. A ativação dos osteoclastos também estimula a angiogênese e causa hiperplasia sinovial. Os linfócitos T de regulação (T_{regs}) estão envolvidos na manutenção da auto-tolerância, podendo inibir as reações autoimunes, mas não funcionam corretamente e/ou estão em número reduzido nos pacientes com AR. Os níveis altos de TNF- α presentes no fluido sinovial parecem estar relacionados com a atividade diminuída dos T_{regs}, e o tratamento com inibidores dos TNF- α permite restaurar, pelo menos em parte, a função dos T_{regs} (32,37,62,63).

5.3 TNF- α , tecido adiposo e exercício físico

O exercício físico tem vários benefícios para os doentes com AR, incluindo a redução da concentração de citocinas pró-inflamatórias, como os TNF- α , exercendo assim uma atividade anti-inflamatória, o que é um importante adjuvante no tratamento de patologias em que ocorre inflamação sistêmica. O mecanismo pelo qual esse efeito ocorre não se encontra totalmente elucidado. Após a prática de exercício, ocorre o aumento do número de recetores de TNF- α solúveis, da IL-10, uma interleucina anti-inflamatória, e de IL-6, o que conduz à diminuição nos níveis de TNF- α . A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória, envolvida na resposta imune, e pode ser produzida por diversos tipos de células. Contudo, apesar da sua função pró-inflamatória geral, quando é secretada pelas células dos músculos esqueléticos, estimula a produção de IL-10, do recetor antagonista da IL-1 (citocina pró-inflamatória) e está associada à diminuição dos níveis dos TNF- α . A intensidade do exercício é importante, verificando-se que exercícios de intensidade elevada levam ao stress físico, ocorrendo aumento das citocinas pró-inflamatórias,

enquanto os de intensidade moderada apresentam os resultados benéficos anti-inflamatórios (64-67).

Como mencionado anteriormente, a perda de peso em doentes obesos é uma medida não terapêutica adjuvante do tratamento da AR. De facto, a obesidade está associada a um grau baixo de inflamação sistémica crónica, que envolve a sobre expressão de TNF- α no tecido adiposo. Assim, a perda de peso e a prática de exercício físico relacionam-se com a descida da inflamação sistémica (68,69).

5.4 TNF- α e gravidez

Os TNF- α têm um papel interveniente na gravidez, desde a implantação do embrião e formação da placenta, até toda a evolução da gestação. O equilíbrio nas suas concentrações é importante, já que, durante a gravidez, vai ocorrendo um aumento fisiológico de produção dos TNF- α , sendo que, níveis muito elevados podem trazer complicações, como retardamento no crescimento, parto prematuro e aborto espontâneo. Nas grávidas e lactantes, não há evidências suficientes acerca da segurança da utilização dos inibidores dos TNF- α , havendo falta de estudos em humanos, e os resultados até agora disponíveis não são esclarecedores sobre a possível relação entre os anti-TNF- α e os eventos adversos ocorridos na gravidez de doentes com AR, que também podem ocorrer devido à própria atividade da AR (71-73).

A transferência de moléculas que contêm a porção Fc (fragmento cristalizável, que constitui a base do anticorpo) da IgG1 (imunoglobulina G subclasse 1), incluindo os anti-TNF- α , ocorre através dos recetores neonatais Fc expressos na placenta. Pela sua semelhança com as IgG1, os inibidores atravessam a placenta em graus variáveis, sendo que, no primeiro trimestre, o transporte placentário é menor, e aumenta no segundo e no terceiro trimestre (74).

Alguns inibidores dos TNF- α , nomeadamente os anticorpos monoclonais (adalimumab, infliximab, golimumab), apresentam maior afinidade para o recetor neonatal Fc do que os restantes (etanercept e certolizumab pegol). Por esta razão, os primeiros têm uma utilização mais restrita do que os segundos durante a gravidez. Estes compostos são

excretados no leite materno, em quantidades reduzidas, mas parecem não afetar os recém-nascidos, por isso podem ser utilizados durante o período de amamentação, se for determinado que é clinicamente necessário (75).

A sua utilização só deve ocorrer depois de avaliadas as vantagens e os riscos, sendo que é importante as doentes terem a inflamação controlada. Quando isso não é possível com a utilização de outros fármacos considerados mais seguros para o feto, podem-se usar os anti-TNF- α durante a gravidez e amamentação, sob vigilância médica (72,76).

5.5 Fármacos anti-TNF- α

A compreensão da cascata de sinalização desencadeada pela ligação dos TNF- α aos recetores TNFR permitiu desenvolver novas e importantes medidas terapêuticas. Os inibidores dos TNF- α , já aprovados pela Agência Europeia do Medicamento (EMA, do inglês, *European Medicine Agency*), e utilizados em Portugal, são os seguintes: adalimumab, infliximab, etanercept, certolizumab pegol, golimumab (58,59,71).

Segundo as recomendações da EULAR e ACR, os medicamentos anti-TNF- α e os outros medicamentos biológicos devem ser utilizados quando a terapêutica de primeira linha não é suficiente para atingir o objetivo terapêutico depois de 6 meses de tratamento, ou quando essa terapêutica não é tolerada pelos pacientes (31,45).

Frequentemente, os inibidores dos TNF- α são a primeira escolha de fármaco biológico, e embora, de um modo geral, sejam semelhantes na eficácia e toxicidade, algumas diferenças estruturais podem conduzir a uma escolha mais específica perante algumas condições clínicas dos pacientes (6,47).

Mecanismo de ação

Os inibidores dos TNF- α ligam-se aos TNF- α , solúveis e transmembranares, e atuam impedindo a sua interação com os recetores celulares, e conseqüentemente, a ativação celular. Estes fármacos parecem exercer a sua ação terapêutica por diferentes

mecanismos: 1) o **bloqueio** da sua interação dos TNF- α com os recetores, 2) ação como agonistas dos tmTNF- α , funcionando os tmTNF- α como recetor (**sinalização reversa**), 3) **citotoxicidade dependente de complemento** (CDC) e **citotoxicidade celular dependente de anticorpos** (ADCC, do inglês, *Antibody dependent cellular cytotoxicity*). A sinalização reversa desencadeia respostas de apoptose, supressão da produção de citocinas e resistência a endotoxinas. Este efeito apoptótico é benéfico, não só pela redução da multicelularidade presente no tecido sinovial na AR, mas também porque é um processo que mantém a homeostase e que parece estar comprometido em pacientes com a patologia, levando à sobrevivência anormal de vários tipos de células, como neutrófilos, macrófagos, linfócitos T, entre outras (77,78).

Embora sejam necessárias mais evidências, os fármacos anti-TNF- α com a região Fc aparentam poder induzir lise de células portadoras de tmTNF- α , por mecanismos dependentes de Fc - *citotoxicidade dependente de complemento* (CDC) e *citotoxicidade celular dependente de anticorpos* (ADCC). À região Fc pode-se ligar o C1q (um complexo proteico do sistema imunitário inato), iniciando a via clássica do complemento, que resulta na formação de um complexo que provoca formação de poros na membrana celular e consequente lise celular. Ambos os tipos de citotoxicidade podem ser induzidos pelo infliximab, adalimumab, e em menor extensão, etanercept. A título exemplificativo, a figura 5.1 ilustra o mecanismo de ação geral dos anti-TNF- α (79).

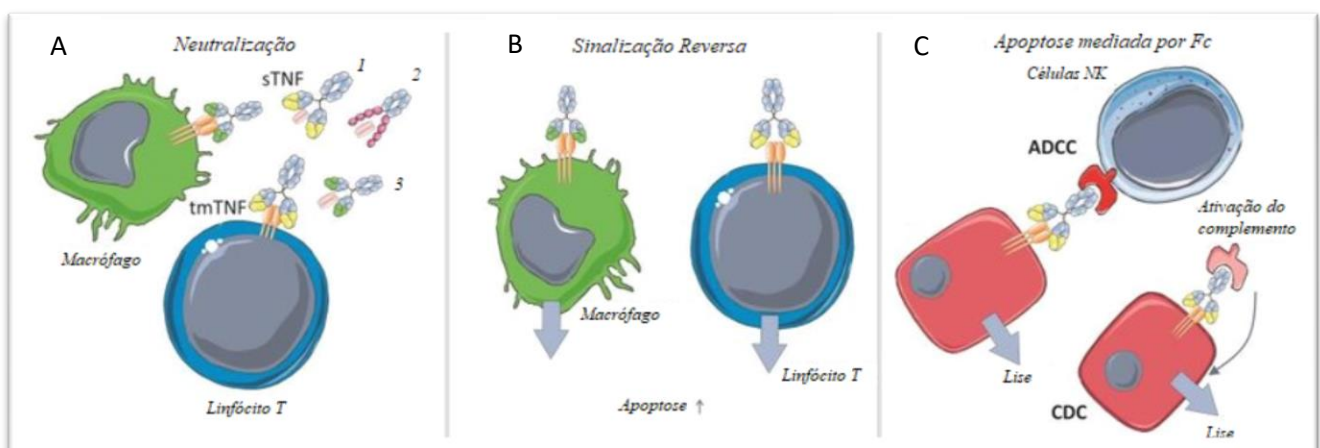


Figura 5.1: Mecanismo de ação dos inibidores dos TNF- α : A - neutralização dos TNF- α , B - sinalização reversa e C - apoptose mediada por Fc. 1-infliximab, 2- etanercept, 3- adalimumab/ golimumab. ADCC – citotoxicidade celular dependente de anticorpos, CDC – citotoxicidade dependente de complemento, Fc – fragmento cristalizável, NK – natural killers, sTNF – TNF solúveis, tmTNF – TNF transmembranares. Adaptado de 80.

Precauções e eventos adversos

A inibição dos TNF- α , com ação importante nos processos inflamatórios, constitui uma alternativa terapêutica adequada quando os DMARDs convencionais não são eficazes ou tolerados, e foi a primeira alternativa biológica disponível no mercado. Contudo, esta terapêutica pode implicar reações adversas graves, pela inibição não seletiva, das formas livre e transmembranar desta citocina (58,81).

A **imunossupressão** que ocorre pode ser responsável pelo aparecimento de infecções graves e potencialmente fatais, como a pneumonia, hepatite C, e reativação da hepatite B e tuberculose. Os inibidores dos TNF- α aumentam, consideravelmente, a incidência da tuberculose, em comparação com a população geral. Por esta razão, antes de se iniciar esta terapêutica biológica, é necessário realizar a prova da tuberculina, para verificar a possibilidade de existência de infecção latente, devido ao risco de reativação da tuberculose (6,81-83).

As reações adversas **mais comuns** são reações no local da injeção, reações alérgicas, prurido, febre e desenvolvimento de autoanticorpos. Os autoanticorpos podem induzir desmielinização do sistema nervoso central e lúpus. Outros possíveis efeitos dos inibidores dos TNF- α incluem maior risco de dano hepático e cardíaco. O risco aumentado de ocorrência de linfomas e outros cancros também pode estar associado a estes medicamentos. Associações entre fármacos biológicos não são recomendadas devido aos sérios riscos de reações adversas que podem ocorrer (58,84-87).

Os pacientes com AR têm uma predisposição maior de desenvolver **doença cardíaca**, em relação à população geral. Concentrações elevadas de TNF- α podem ser encontradas em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva, e os seus efeitos advêm, sobretudo, da sinalização através do TNFR1, disfunção mitocondrial, stress oxidativo e apoptose miocítica, levando à disfunção contráctil no coração (efeito inotrópico negativo) (88,89). Devido ao papel dos TNF- α na doença cardíaca, considerou-se que os inibidores dos TNF- α poderiam ter um papel cardioprotetor nos pacientes com AR, e alguns estudos demonstraram aparentes benefícios (89-91).

No entanto, vários estudos acerca da utilização dos inibidores dos TNF- α no tratamento da doença cardíaca não revelaram um benefício evidente da sua utilização, mostrando até que poderia haver uma relação entre a utilização destes fármacos e o aparecimento de

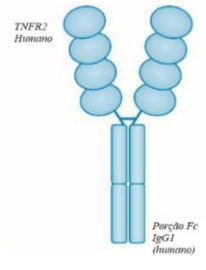
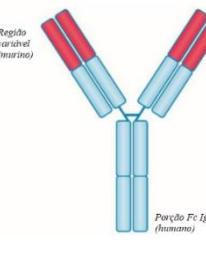
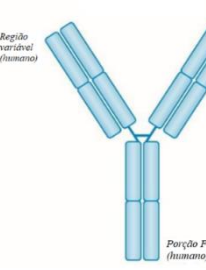
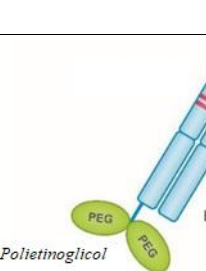
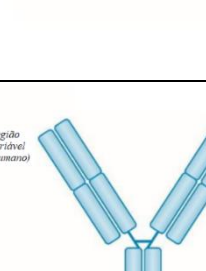
nova doença cardíaca, inclusive em doentes sem antecedentes, ou um agravamento da ICC pré-existente. Uma possível explicação será a inibição não seletiva das vias de sinalização dos TNFR, sendo que a inibição dos TNFR1 seria benéfica, mas os TNFR2 têm sido implicados na sobrevivência celular, exercendo um efeito protetor, e quando são também inibidos não é exercido esse efeito cardioprotetor normal e há maior ocorrência de cardiotoxicidade. Devido aos resultados inconclusivos, os inibidores dos TNF- α devem ser prescritos com precaução a doentes com ICC (92-95).

Os TNF- α inibem a via sinalizadora dos recetores de insulina, podendo induzir resistência à insulina. A terapêutica anti-TNF- α pode melhorar a sensibilidade à insulina, pelo que, nos **diabéticos** medicados, podem ocorrer situações de hipoglicémia com a utilização desta classe terapêutica, podendo ser necessário ajustar a medicação destes doentes (96-99).

Embora não exista um consenso sobre a probabilidade de a utilização dos inibidores dos TNF- α aumentar o risco de desenvolver **cancro**, sabendo que os TNF- α possuem ação tumoral e um papel importante no sistema imunitário, nos pacientes com histórico de cancro, a utilização destes fármacos deve ser decidida com precaução (81,85).

A **imunogenicidade** refere-se à capacidade que os fármacos biológicos (compostos proteicos) têm de induzir uma resposta imune, pela deteção de pequenas diferenças entre a molécula “estranha” administrada e as proteínas endógenas, o que conduz à produção dos chamados “anticorpos antidrogas” (ADAs, do inglês, *anti-drug antibodies*). Os ADAs podem neutralizar os fármacos e/ou acelerar a sua eliminação, levando a alterações da biodisponibilidade, e a consequentes níveis subterapêuticos, com perda de eficácia e reações mais intensas no local da injeção (100). O desenvolvimento dos ADAs pode ser reduzido com a utilização concomitante com metotrexato (MTX). Isto permite, além de um efeito sinérgico no tratamento da AR, manter a eficácia dos inibidores dos TNF- α , aumentar a sobrevida dos fármacos, e diminuir as reações adversas associadas aos ADAs (31,58,101). Outra medida para controlar este problema num paciente, pode ser a troca por outro inibidor dos TNF- α . Por exemplo, a troca de um fármaco considerado mais imunogénico, por outro, considerado menos imunogénico, como o etanercept. que demonstrou ser o menos imunogénico de todos os inibidores dos TNF- α . Além disso, pode fazer-se uma troca por outro fármaco biológico, com outro mecanismo de ação (31,102). A tabela 5.1 apresenta um resumo das características dos cinco inibidores dos TNF- α :

Tabela 5.1: Características gerais dos inibidores dos TNF- α (6, 17, 38, 39, 45, 58, 76, 84-87, 103-122).

Fármaco (nome comercial)	Estrutura	Administração e semivida	Alvo de ação	Monoterapia	Efeitos adversos
Etanercept (Enbrel®)		50mg semanais, com a dosagem de 50mg ou duas vezes por semana, com a dosagem de 25mg via subcutânea $\pm 70h$	sTNF- α tmTNF- α linfotoxina α /TNF- β	Sim	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Reações no local da injeção Prurido ▪ Febre ▪ Infecções ▪ Reações alérgicas ▪ Autoanticorpos ▪ Linfomas e outros câncros ▪ Desmielinização do sistema nervoso central ▪ Dano hepático e cardíaco ▪ Lúpus.
Infliximab (Remicade®)		3-7,5mg/kg a cada 8 semanas via intravenosa 8-10 dias	sTNF- α tmTNF- α	Não	
Adalimumab (Humira®)		40-80mg a cada 2 semanas via subcutânea 15-19 dias	sTNF- α tmTNF- α	Sim	
Certolizumab pegol (Cimzia®)		200mg a cada 2 semanas via subcutânea ± 14 dias	sTNF- α tmTNF- α	Sim	
Golimumab (Simponi®)		50mg-100mg uma vez por mês via subcutânea ± 12 dias	sTNF- α tmTNF- α	Não	

IgG1 – imunoglobulina do tipo 1; PEG – polietilenoglicol; sTNF- α – TNF- α solúveis; tmTNF- α – TNF- α transmembranares

5.5.1 Etanercept (Enbrel®)

Estrutura

O etanercept foi o primeiro fármaco biológico aprovado para o tratamento da artrite reumatoide (AR) pela FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*), em 1998. É o único fármaco anti-TNF- α que não é um anticorpo monoclonal. É uma proteína de fusão (uma proteína artificial criada através da expressão de genes fundidos, que originalmente expressavam proteínas em separado) produzida por DNA recombinante, em células de ovário de hamster chinês (*Cricetulus griseus*). Consiste na ligação de dois TNFR2 à porção Fc de um anticorpo IgG1 (fig.5.1;103,104).

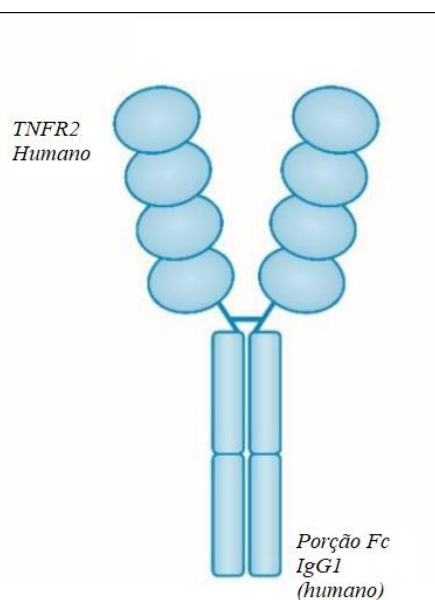


Figura 5.1: Estrutura do etanercept. Adaptado de 104.

Mecanismo de ação e administração

O etanercept liga-se aos TNF- α solúveis (sTNF- α) e transmembranares (tmTNF- α) e atua impedindo a sua interação com os recetores celulares, e consequentemente, a ativação celular. A ligação com os TNF- α solúveis é feita apenas com a forma trimérica (compostos formados por três monómeros iguais) e na proporção de 1:1. Em relação aos tmTNF- α , a ligação de etanercept ocorre, igualmente, na forma trimérica dos tmTNF- α e na proporção 1:1, mas esta ligação tem menos afinidade do que a ligação

aos sTNF- α . De notar que o etanercept apresenta menos afinidade para este tipo de TNF- α que os outros fármacos inibidores dos TNF- α (77).

O etanercept parece desencadear menos vias de sinalização reversa do que os outros fármacos. No entanto, alguns estudos sugerem que pode suprimir parcialmente a produção de TNF- α e IL-1 β (outros estudos mostraram que pode ocorrer esta supressão por outros fármacos, mas não por etanercept), pode diminuir a secreção do fator apoptótico em células endoteliais estimuladas por lipopolissacáridos (antígenos bacterianos), e diminuir a celularidade, ou seja, o número de células num tecido (macrófagos e linfócitos T), neste caso do tecido sinovial, possivelmente por apoptose (105,106,123).

Outro efeito que pode influenciar a celularidade é a diminuição dos níveis de fatores angiogénicos e de permeabilidade vascular, como, por exemplo, o fator de crescimento endotelial vascular e a selectina-E. Em patologias como a AR, o excesso de citocinas pro-inflamatórias (como os TNF- α) produz um aumento desses fatores, o que facilita a migração celular para o tecido sinovial, portanto, o etanercept reduz esses níveis, reduzindo a angiogénese e a facilitação de migração celular. (124)

O etanercept é o único fármaco anti-TNF- α que atua também na **linfotóxina α** , também designada TNF- β , que é mediadora da secreção de citocinas pró-inflamatórias pelos fibroblastos sinoviais. A inibição da linfotóxina α por si só não parece ser relevante para o tratamento da AR, mas, em conjunto com a inibição dos TNF- α , pode ser benéfica no efeito terapêutico (6,103,125,126).

Este fármaco apresenta uma semivida mais curta que os outros inibidores dos TNF- α (tabela 5.1). A semivida destes inibidores parece estar relacionada com a ligação das suas porções Fc aos recetores Fc neonatais das células endoteliais. O processo de *reciclagem* ou degradação das moléculas naturais, as IgGs, inicia-se com a pinocitose das mesmas, a pH neutro, seguida da formação de um endossoma que proporciona a criação de um ambiente ácido. No meio ácido, a porção Fc liga-se ao recetor e, após a ligação, podem suceder dois mecanismos, que são a associação a um lisossoma e consequente degradação da porção Fc, ou transcitose, para o exterior da membrana plasmática, ocorrendo reciclagem da imunoglobulina (76). A sequência de aminoácidos da Fc do etanercept é idêntica à dos outros inibidores, no entanto, a diferença nas

semividas pode sugerir que a conformação ou acessibilidade estérica da Fc do etanercept aos recetores Fc neonatais seja diferente de infliximab, adalimumab e golimumab (103).

Eficácia

Vários estudos evidenciaram a eficácia de etanercept no tratamento da AR. A resposta **ACR** é um parâmetro utilizado em ensaios clínicos que representa uma melhoria percentual resultante da comparação da atividade da doença em dois momentos distintos. Os critérios de resposta do ACR baseiam-se na melhoria das contagens de articulações dolorosas ou inchadas e na melhoria em, pelo menos, três dos seguintes parâmetros: 1) avaliação global da atividade da doença pelo paciente, 2) avaliação global da atividade da doença pelo médico, 3) escala de dor do paciente, 4) questionário de incapacidade/funcional (Índice de Incapacidade do Questionário de Avaliação de Saúde), 5) reagente de fase aguda (velocidade de eritrossedimentação ou proteína C-reativa). Portanto, por exemplo, um ACR20 representa uma melhoria de 20% na contagem de articulações dolorosas ou inchadas, e uma melhoria de 20% em pelo menos três dos critérios mencionados acima. De igual forma, um ACR50 e um ACR70 representam uma melhoria de 50 e 70%, respetivamente, na contagem de articulações dolorosas e inchadas, e uma melhoria de 50 e 70%, respetivamente, em pelo menos três dos critérios (127).

Um estudo randomizado, com duração de 2 anos, em que os pacientes receberam doses quinzenais de etanercept (10 ou 25mg), ou MTX semanalmente, mostrou que os pacientes medicados com etanercept (em monoterapia) obtiveram maior redução da atividade da doença, abrandamento de danos articulares e redução de incapacidade. Os resultados mostraram que 72% dos pacientes tiveram uma melhoria classificada com ACR20, em comparação com 59% nos medicados com MTX, que apresentaram o mesmo nível de melhoria. Os participantes deste estudo, medicados com etanercept, apresentaram ainda uma incidência significativamente menor de danos articulares do que os participantes medicados com MTX. Além disso, ocorreu uma menor incidência de eventos adversos e descontinuação do tratamento associada a esses eventos nos participantes a quem foi administrado etanercept, em comparação com os resultados

registados no grupo dos participantes a tomar MTX (128). Noutro estudo norte-americano, com duração de 6 meses, em que o efeito da administração de 10 e 25mg de etanercept foi comparada com a administração de placebo, o etanercept reduziu significativamente a atividade da doença de forma proporcional à dose administrada, sendo que, em 3 meses, 62% dos pacientes medicados com a dose de 25mg atingiu um ACR20, e, aos 6 meses, 40% desses doentes atingiram ACR50 (129). Num outro ensaio clínico, de 24 semanas, realizado para avaliar a terapia combinada com MTX, foram administrados, quinzenalmente 25mg de etanercept a pacientes já medicados com MTX há, pelo menos, 6 meses. Neste ensaio, o grupo controlo era constituído por doentes medicados com MTX a que foi adicionada a administração quinzenal de um placebo. O ensaio mostrou que, no final das 24 semanas, no grupo de pacientes que receberam etanercept, 71% dos participantes apresentou uma melhoria classificada como ACR20 enquanto 39% apresentaram uma melhoria ACR50. No grupo controlo, 27% e 3% dos participantes apresentaram melhorias classificadas como ACR20 e ACR50, respetivamente (130).

Até à data, tem sido verificado que o tratamento com etanercept conduz a uma menor incidência de tuberculose (a reativação pode ocorrer com o tratamento com este fármaco) em relação aos outros anti-TNF- α , pelo que na escolha de tratamento com esta classe terapêutica, pode ser considerada em pacientes com maior risco de contrair a infeção. O etanercept apresenta uma menor imunogenicidade e, a produção de anticorpos anti-etanercept ocorre em nível reduzidos, de forma transitória. Os anticorpos produzidos têm a particularidade de serem anticorpos não neutralizantes do fármaco (6,131-133).

Devido à afinidade menor de etanercept para os recetores Fc neonatais, é expectável que o fármaco tenha uma transferência placentária reduzida, podendo ser utilizado durante mais tempo que o infliximab, adalimumab e golimumab na gravidez. Segundo as recomendações da EULAR, pode ser utilizado até à 30^a-32^a semana da gestação (107).

5.5.2 Infliximab (Remicade®)

Estrutura

Este medicamento biológico é um anticorpo monoclonal quimérico, formado pela região variável de um anticorpo murino e pela região constante de uma IgG1, produzido por DNA recombinante, em hibridoma de murino (Fig.5.2; 6, 104).

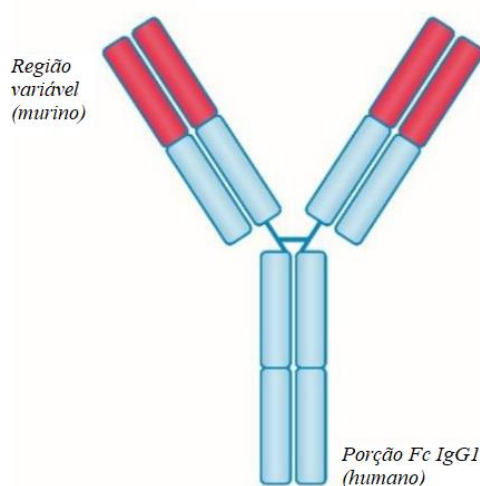


Figura 5.2: Estrutura do infliximab. Adaptado de 104.

Mecanismo de ação e administração

A ação deste fármaco decorre da neutralização dos TNF- α , com grande afinidade para os TNF- α solúveis e transmembranares, impedindo a sua ligação aos recetores e respetiva resposta biológica (108,109). A ligação aos sTNF- α pode ocorrer na forma monomérica ou trimérica, podendo ligar-se, simultaneamente, a 2 moléculas de sTNF- α , ou a 3 moléculas de tmTNF- α . A ligação aos tmTNF- α aparenta ser 3 vezes maior com infliximab do que com etanercept, talvez devido a diferenças estequiométricas, uma vez que o etanercept geralmente liga-se na proporção de 1:1 (110).

A sinalização reversa induzida por infliximab mostrou suprimir, na totalidade, a produção dos TNF- α , IL-1 β , e outras citocinas, ao contrário de etanercept, que apenas suprime a

produção das citocinas parcialmente (105). Por outro lado, tal como etanercept, o infliximab suprime a secreção do fator apoptótico de células endoteliais induzida por lipopolissacáridos (106). A interação com os tmTNF- α pode induzir sinais reversos, que podem inibir a proliferação de linfócitos T, por indução da paragem do ciclo celular (111).

O infliximab mostrou poder induzir apoptose por citotoxicidade dependente de complemento e citotoxicidade celular dependente de anticorpos (79). Em pacientes tratados com infliximab verificou-se uma redução significativa de macrófagos e linfócitos T (estes em menor escala) no tecido sinovial inflamado, por apoptose e por redução da migração das células para o tecido, por diminuição dos níveis de fatores como a selectina-E, entre outros (112,123).

Como mencionado anteriormente, os fármacos anti-TNF- α parecem reverter a função dos linfócitos T reguladores, que têm função reduzida na AR. Um estudo demonstrou que infliximab restabelece a capacidade dos T_{regs} de inibir a produção de citocinas e o seu efeito regulatório nos outros linfócitos T, verificando-se um aumento significativo destas células em circulação, assim como a reversão da sua anomalia (113).

Devido às longas semividas de infliximab e adalimumab (maiores que a do etanercept), considera-se que é possível que se liguem aos recetores neonatais de forma semelhante às IgG1 naturais. O infliximab contém uma porção derivada de murino, e, por isso, pode apresentar taxas elevadas de imunogenicidade, devendo ser administrado concomitantemente com o MTX (108,134). Apesar do tratamento concomitante com MTX, alguns estudos detetaram anticorpos anti-infliximab em mais de 40% pacientes. A presença destes anticorpos induz uma resposta diminuída ao fármaco, o aumento da sua depuração e reações à infusão (134,135). Por esta razão, o tratamento prolongado com infliximab pode requerer aumentos de dosagem e intensificação de terapia concomitante com outros DMARDs (136).

Por ser administrado por via intravenosa e pela sua superior imunogenicidade, é possível a ocorrência de reações relacionadas com a infusão agudas e tardias, como mialgias, erupção cutânea e reações anafiláticas (137).

Eficácia

Num estudo de 30 semanas, diferentes grupos de pacientes com AR receberam diferentes doses de infliximab (nas dosagens de 3mg/kg a cada 4 ou 8 semanas, ou 10mg/kg a cada 4 ou 8 semanas) em combinação com MTX, vs. placebo e MTX (grupo controlo). O tratamento com infliximab foi bem tolerado e a taxa de cessação por eventos adversos foi semelhante à do grupo placebo. Ao fim das 30 semanas, verificou-se uma resposta de ACR20 em 53 e 50% dos pacientes a receber 3mg/kg a cada 4 ou 8 semanas, respetivamente, e 58% e 52% dos pacientes a receber 10mg/kg a cada 4 ou 8 semanas, respetivamente, vs. 20% de pacientes a receber placebo. A resposta ACR50 foi de 29 e 27% em pacientes a receber 3mg/kg a cada 4 ou 8 semanas, respetivamente, e 26 e 31% em pacientes a receber 10mg/kg a cada 4 ou 8 semanas, respetivamente, vs. 5% de pacientes a receber placebo (138). Outro estudo, com uma duração de 2 anos, foi realizado em pacientes a receber igualmente infliximab (3 ou 10mg/kg) e MTX, ou MTX com placebo. A percentagem de pacientes que atingiu ACR20 variou entre 40-48%, enquanto no grupo que recebeu só MTX apenas 16% atingiu a avaliação de ACR20 (139). Um estudo do tratamento combinado de infliximab com leflunomida avaliou a eficácia de 3mg/kg de infliximab, administrado de 8 em 8 semanas. Os pacientes já utilizavam leflunomida há, pelo menos, 16 semanas (anteriores ao estudo) e os resultados foram avaliados após 30 semanas, com melhorias significativas. Dos pacientes, 47,1, 21,4 e 12,9% atingiram ACR20, ACR50 e ACR70, respetivamente (114).

5.5.3 Adalimumab (Humira®)

Estrutura

Este anticorpo foi o primeiro cuja estrutura é totalmente humana e análoga à IgG1 naturalmente presente no corpo humano. Foi aprovado pela EMA em 2003, e é produzido através de DNA recombinante, em células de ovário de hamster chinês. (Fig.5.3; 104, 140, 141).

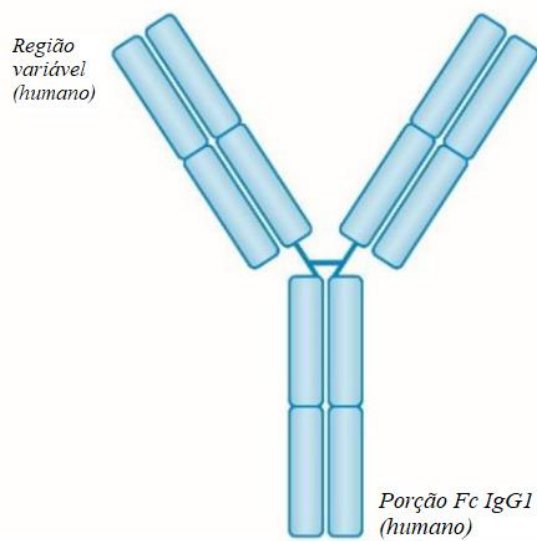


Figura 2.3: Estrutura do adalimumab. Adaptado de 104.

Mecanismo de ação e administração

O mecanismo de ação do adalimumab resulta da neutralização da função biológica dos TNF- α solúveis (pode ligar-se a dois trímeros, simultaneamente) e transmembranares, e do conseqüente bloqueio da sua interação com os respectivos recetores (114). A sinalização reversa induzida pelo adalimumab leva à inibição da produção dos TNF- α , IL-1 β e outras citocinas (104). A celularidade (monócitos e linfócitos T) no tecido sinovial é diminuída pelo adalimumab, por mecanismos de apoptose, e a função dos T_{regs} é restabelecida, sendo observável um aumento do seu número e da sua função. O adalimumab aparenta induzir lise celular por citotoxicidade dependente de complemento e por citotoxicidade celular dependente de anticorpos e inibe também a produção de moléculas de adesão, como a selectina-E, entre outras (115,142).

Os anticorpos totalmente humanizados, como é o caso deste fármaco, foram desenvolvidos com a intenção de diminuir a imunogenicidade, que afeta a eficácia terapêutica. No entanto, a formação de ADAs também ocorre com a utilização de adalimumab (144).

Eficácia

Em relação à eficácia, um estudo randomizado com a duração de 26 semanas, avaliou a utilização de adalimumab em monoterapia, tendo sido observadas elevadas taxas de resposta, melhoria na qualidade de vida, diminuição da atividade da doença, sem diferenças significativas nos eventos adversos, entre o adalimumab e o placebo utilizado. Os pacientes com AR receberam 20mg semanalmente, 20 ou 40mg quinzenalmente, 40mg semanalmente, ou placebo, e foi avaliada a resposta ACR20, ACR50 e ACR70. ACR20 foi atingida por 35,8% dos pacientes a que foram administrados 20mg, quinzenalmente, 39,3% dos que tomaram 20mg, semanalmente. 46% e 53,4% dos pacientes a que foram administrados 40mg, quinzenalmente ou semanalmente, respetivamente também atingiram a classificação de ACR20, enquanto apenas 19,1% dos doentes que tomaram placebo atingiram este valor. A classificação de ACR50 foi atingida por 18,9%, 20,5%, 22,1%, 35% e dos que fizeram dos participantes nos grupos a que foram administrados 20mg, quinzenalmente, 20mg, semanalmente, 40mg, quinzenalmente, e 40mg, semanalmente, respetivamente. Dos participantes que tomaram placebo, apenas 8,2% atingiram o valor ACR50. O valor de ACR70 foi atingido por 8,5% dos que tomaram 20mg, quinzenalmente, por 9,8% dos que tomaram 20mg, semanalmente, e 12,4% e 18,4% dos participantes a que foram administrados 40mg, quinzenalmente e semanalmente, respetivamente. Apenas 1,8% dos participantes que tomaram placebo chegaram a uma melhoria classificada como ACR70 (145).

Outro estudo randomizado, com uma duração de 24 semanas, foi realizado com adalimumab 20, 40 ou 80mg, administrado quinzenalmente, concomitantemente com MTX, tendo o grupo controlo recebido MTX com placebo, também quinzenalmente. A resposta terapêutica verificou-se rapidamente, com grande parte dos pacientes a atingir uma melhoria classificada como ACR20 uma semana depois. No final, esta classificação (ACR20) foi alcançada por 47,8%, 67,2% e 65,8% dos pacientes medicados com 20mg, 40mg e 80mg, respetivamente, enquanto do grupo controlo apenas 14,5% dos participantes atingiram este valor. A resposta com valor ACR50 foi alcançada por 31,9%, 55,2%, 42,5% e 8,1%, dos pacientes medicados com 20mg, 40mg, 80mg e placebo, respetivamente. Melhoria com avaliação ACR70 foi alcançada por pacientes medicados com 20mg, 40mg ou 80mg, nas percentagens respetivas de 10,1%, 26,9% e 19,2%, enquanto apenas 4,8% dos pacientes medicados em placebo (116).

5.5.4. Certolizumab pegol (Cimzia®)

Estrutura

A estrutura do certolizumab pegol consiste num fragmento Fab' (do inglês, *Fragment Antigen Binding*) de um anticorpo recombinante humanizado, produzido em *Escherichia coli*, conjugado com polietilenoglicol (PEG) (Fig.5.4, 104). Não possui a região Fc, como os outros inibidores (146).

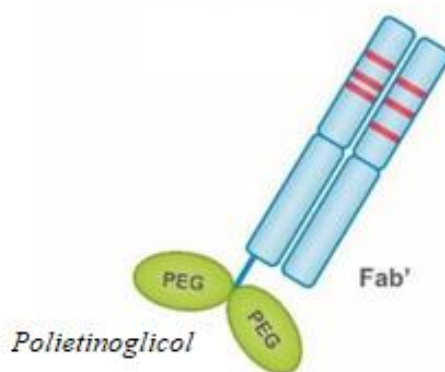


Figura 5.4: Estrutura do certolizumab pegol. Adaptado de 104.

Mecanismo de ação e administração

O certolizumab pegol atua induzindo a neutralização das formas solúveis e transmembranares dos TNF- α (141). A ligação do certolizumab pegol aos tmTNF- α resulta numa sinalização inversa, com redução de produção dos TNF- α , da IL-1 β (de forma mais potente do que o infliximab, o etanercept e o adalimumab), e de outras citocinas, mas não induz apoptose (105,147). O certolizumab pegol não provoca citotoxicidade mediada por complemento, ou dependente de anticorpos, como é característico de uma molécula que não possui uma região Fc. Este fármaco também diminui os níveis de fatores que facilitam a migração celular como é o caso da selectina-E e do fator de crescimento endotelial vascular (148).

A peguilação do certozilumab pegol parece diminuir a imunogenicidade da molécula, por impedimento estérico, diminuindo o reconhecimento como antigénio, e a apresentação

pelas células apresentadoras de antígenos (117,146,148). Não possuindo porção Fc, estas moléculas não se ligam ao receptor neonatal Fc nos endossomos celulares, o que evitaria a degradação endossomal e a liberação na corrente sanguínea. No entanto, a grande dimensão da porção PEG limita a filtração glomerular, permitindo aumentar o tempo de vida do composto (148).

Como mencionado anteriormente, a porção Fc dos anticorpos liga-se ao receptor neonatal Fc, e é importante para a transferência placentária. Por não ter esta porção, o efeito de certolizumab pegol no feto é mínimo ou nenhum, podendo ser utilizado durante toda a gravidez, se necessário (149).

Eficácia

A eficácia da terapêutica do certolizumab pegol (dose de indução de 400mg nas semanas 0, 2 e 4, seguida de 200mg quinzenais) foi avaliada num estudo randomizado, com uma duração de 12 semanas, por comparação com o resultado obtido num grupo controlo a que foi administrado placebo. Foram obtidas melhorias rapidamente, uma vez que na segunda semana já havia 31,8% de pacientes a atingir uma melhoria de ACR20. Na última semana, a resposta ACR20 foi obtida por 51,1% e 25,9%, dos participantes a que foram administrados o fármaco e o placebo, respetivamente. Observaram-se respostas de ACR50 e ACR70 em 26,6% e 12,9%, e em 9,9% e 2,8%, dos pacientes a utilizar o fármaco e o placebo, respetivamente (150).

Um estudo internacional, com uma duração de 24 semanas, testou a eficácia do certolizumab pegol (dose de indução de 400mg nas semanas 0, 2 e 4, + 200mg ou 400mg quinzenais) administrado em simultâneo com MTX. Neste estudo, o grupo controlo foi medicado com MTX, administrado em simultâneo com um placebo. Além da superior eficácia do certolizumab pegol e das melhorias na função física observadas, foi verificada a inibição da progressão de danos articulares, e uma baixa incidência de desistência do estudo por eventos adversos. Os resultados mostraram que 57,3%, 57,6% e 8,7% dos pacientes apresentaram melhorias de ACR20, quando medicados com 200mg de certolizumab pegol, 400mg, ou com placebo. A resposta terapêutica de ACR50 foi observada em 32,5%, 33,1%, e 3,1% dos participantes a tomar 200mg ou 400mg de fármaco, e placebo, respetivamente. Valores de ACR70 foram observados em 15,9%,

10,6% e 0,8% dos participantes a que foram ministrados 200mg ou 400mg de fármaco, e placebo, respetivamente (151).

Num outro estudo, de igual duração, os participantes receberam certolizumab pegol 400mg ou placebo, a cada 4 semanas. Os resultados observados nos pacientes medicados com o fármaco foram significativamente superiores aos do o grupo controlo, e não houve registo de ocorrência de eventos adversos graves ou mortes. No final do estudo, a resposta ACR20 foi observada em 45,5% e 9,5% dos participantes (fármaco e placebo, respetivamente), enquanto a resposta ACR50 foi observada em 22,7% e 3,7% dos participantes (fármaco e placebo, respetivamente). O valor ACR70 foi apenas de 5,5%, no grupo medicado com o fármaco. (118).

5.5.5 Golimumab (Simponi®)

Estrutura

O golimumab é um anticorpo monoclonal humano produzido por uma linha celular de hibridoma de murino, por DNA recombinante (Fig.5.5, 104). Foi o último inibidor dos TNF- α aprovado até ao presente, em 2009 (152).

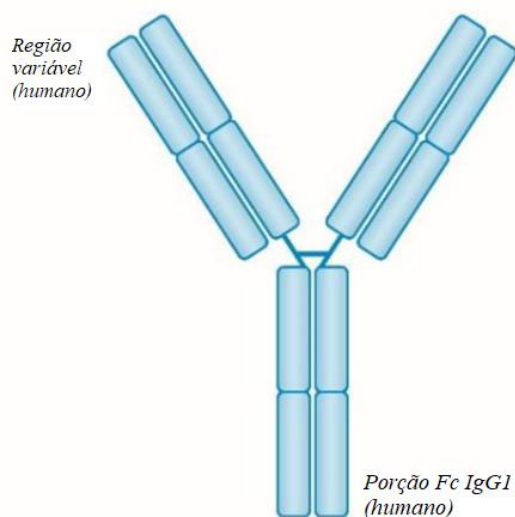


Figura 5.5: Estrutura do golimumab. Adaptado de 104.

Mecanismo de ação e administração

O mecanismo de ação do golimumab ocorre por neutralização dos TNF- α , apresentando esta molécula uma grande afinidade para as formas solúveis e transmembranares dos TNF- α (152). A afinidade de ligação às formas solúveis é semelhante à do etanercept e superior à do infliximab e do adalimumab, possuindo também uma capacidade inibitória dos sTNF- α maior do que estes últimos, o que sugere que uma dose menor de golimumab pode ser tão eficaz como doses mais elevadas de infliximab e adalimumab. A afinidade de ligação às formas membranares dos TNF- α é inferior à das formas solúveis, à semelhança do que acontece com os outros inibidores. Com a sua porção Fc, tem a possibilidade de mediar processos de citotoxicidade dependente de complemento e citotoxicidade celular dependente de anticorpos, resultando em lise celular. Além disso, verifica-se que a sua capacidade de reduzir os níveis de selectina-E em células endoteliais humanas é comparável à do etanercept e superior à do infliximab e do adalimumab, sendo a concentração para isso necessária cerca de 50% menor do que a destes últimos (119).

Eficácia

Um estudo para avaliar a eficácia de golimumab, avaliou o efeito de diversas doses (50 e 100mg) deste fármaco, que foi administrado juntamente com MTX. O estudo incluiu grupos de pacientes a que foram administrados: 50mg de golimumab com MTX, 100mg de golimumab com MTX, 100mg de golimumab com placebo, e placebo com MTX. A administração do golimumab foi realizada a cada 4 semanas, sendo a duração total do estudo de 24 semanas. No final, foi avaliada a percentagem de participantes que apresentaram uma melhoria de ACR50. A terapia combinada obteve percentagens de melhoria superiores à monoterapia. 40,3%, dos pacientes que receberam 50mg do fármaco e MTX obtiveram uma resposta ACR50 enquanto 36,5% dos que receberam 100mg de fármaco e MTX atingiram a ACR50. Por outro lado, 33,1% dos pacientes medicados com 100mg de golimumab e placebo atingiram ACR50, e 29,4% dos participantes que tomaram placebo e MTX atingiram ACR50 (152).

O estudo Go-Forward, realizado no mesmo ano, também teve como objetivo avaliar, entre outros parâmetros, a percentagem de pacientes a atingirem a resposta ACR20, em 14 semanas. Os pacientes foram medicados com: 1) placebo e MTX, 2) 100mg de

golimumab e placebo, 3) 50mg de golimumab e MTX e 4) 100mg de golimumab e MTX, sendo as injeções de golimumab administradas a cada 4 semanas, durante 14 semanas. A resposta ACR20 para cada grupo foi: 33,1% para placebo e MTX, 44,4% para 100mg de golimumab e placebo, 55,1% para 50mg de golimumab e MTX e 56,2% para 100mg de golimumab e MTX. Também neste ensaio, os resultados para a terapia combinada foram superiores do que a monoterapia (153).

5.6 Medicamentos biossimilares

Os medicamentos biossimilares apresentam características físicas, químicas, biológicas muito similares aos medicamentos de referência já comercializados, assim como eficácia e segurança idênticas. A sua comercialização pode ocorrer após o término da patente do medicamento de referência, habitualmente cerca de 10 anos depois de registada a patente. A alta similaridade tem que ser comprovada, com comparações com os medicamentos de referência e ensaios clínicos. Por esta razão, os medicamentos biossimilares podem melhorar o acesso aos medicamentos biológicos por serem mais económicos, apesar da diferença não ser tão grande como acontece com os medicamentos genéricos (154-157).

Sendo moléculas grandes e complexas, não é possível reproduzir o mesmo processo de fabrico, e obter moléculas completamente iguais, mas sim semelhantes. Alterações subtis no processo de fabrico, como alterações nas embalagens, e a presença de contaminantes ou impurezas, podem resultar em alterações da função biológica e imunogenicidade, alterando o perfil de segurança e eficácia. É importante a prática da farmacovigilância pós-comercialização para avaliar o seu desempenho clínico e avaliar os efeitos da troca entre o medicamento de referência e o medicamento biossimilar, quando aplicável (154-157).

Atualmente, estão disponíveis medicamentos biossimilares do etanercept, infliximab e adalimumab. **Benepali** é o medicamento biossimilar do etanercept disponível em Portugal. Foi demonstrado que o Benepali® apresenta similar eficácia, controlo da atividade da doença, proporção de doentes em remissão e retenção do fármaco, em comparação com o Enbrel®. As taxas de descontinuação devido a inefetividade e eventos adversos foram semelhantes, sem ocorrência de reações inesperadas (158).

Flixabi, Inflectra, Zessly e Remsima correspondem aos medicamentos biossimilares do infliximab disponíveis em Portugal, e também apresentam semelhantes taxas de eficácia, efeitos adversos e imunogenicidade (159-161).

Amgevita é o medicamento biossimilar do adalimumab disponível. Assim como os restantes, não apresenta diferenças significativas no efeito terapêutico, efeitos adversos e imunogenicidade (162).

6. Tecnologia de DNA recombinante

Os fármacos anti-TNF- α são produzidos em células de organismos vivos, por tecnologia de hibridoma ou sistemas de expressão de células de mamíferos ou de *Escherichia coli*. A **tecnologia de hibridoma** baseia-se na fusão de células para a produção em larga escala de anticorpos específicos. As células utilizadas são linfócitos B, extraídos de um animal imunizado com os antígenos pretendidos, e células de mieloma. As células híbridas viáveis (hibridomas) são selecionadas e retêm as vantagens dos dois tipos celulares, a longevidade das células cancerígenas (imortais), e a capacidade de produção dos anticorpos dos linfócitos B, resultando numa produção ilimitada de anticorpos. A cultura dos hibridomas pode-se realizar *in vitro* ou *in vivo*, sendo que o método *in vitro* apresenta menor risco de contaminação (163).

Os **sistemas de expressão** consistem na expressão das proteínas desejadas, em células de mamíferos ou bactérias (no caso dos inibidores dos TNF- α), através da introdução de **vetores** nessas células. Os vetores são veículos transportadores de DNA, que é manipulado artificialmente (DNA recombinante), com o objetivo de introduzir genes que codificam as proteínas de interesse e que estas sejam expressas nas células. Neste caso, os vetores usados são plasmídeos bacterianos (frequentemente de *Escherichia coli*) e fagos. O etanercept e o adalimumab são expressos em células de ovário de hamster chinês, o infliximab e o golimumab são expressos em hibridomas de murino, e o fragmento Fab' do certolizumab pegol, antes de ser conjugado com o PEG, é produzido em *Escherichia coli* (164,165).

Os sistemas de expressão em bactérias têm a vantagem de apresentar alta produtividade e menores custos, em comparação com os sistemas de expressão em mamíferos. No entanto, as células de mamíferos são mais utilizadas para a produção de anticorpos

terapêuticos, devido à sua maior semelhança com as células humanas, e porque são necessárias modificações pós-tradução (reações de glicosilação, adição enzimática de hidratos de carbono à superfície das proteínas) e de enrolamento das proteínas, que são mais semelhantes nestas células aos processos que ocorrem nos humanos, do que os processos das bactérias. Estas modificações são importantes para a solubilidade, tempo de semivida, e atividade terapêutica dos fármacos. As células de mamíferos mais utilizadas são as de ovário de hamster chinês, pois apresentam elevadas taxas de proliferação e de expressão de anticorpos, e maior resistência mecânica. Além disso, podem proliferar em meio de cultura isento de soro, o que tem a vantagem de apresentar menos interferentes, menor risco de infecção por agentes infecciosos, e maior simplicidade de isolamento e purificação dos anticorpos (166-169).

Apesar das vantagens, as células de mamíferos podem realizar glicosilações não reconhecidas pelos humanos, que podem ser identificadas como antigénios e induzir reações de imunogenicidade que, como mencionado em capítulo anterior, pode interferir com a farmacocinética e eficácia dos fármacos (170).

Vários fatores podem influenciar a produção dos anticorpos nos sistemas de células de mamíferos, como o design dos vetores e o meio de cultura. O design dos vetores pode influenciar a expressão génica, por exemplo a inclusão de promotores eficientes, como o promotor do citomegalovírus, que podem aumentar os níveis de expressão dos genes, assim como a utilização de intrões selecionados, que também pode contribuir para aumentar a expressão génica. O meio de cultura necessita de nutrientes e oxigénio suficientes, e níveis baixos de lactato (níveis altos causam alta osmolaridade), caso contrário pode levar a apoptose celular e afetar a produtividade. Uma forma de diminuir a apoptose das células, além da otimização do meio de cultura, podem incluir a cotransfecção de genes anti apoptose, o que pode aumentar a viabilidade celular e, assim, aumentar também o rendimento da produção. A regulação dos níveis de lactato é importante para o rendimento da produção das células. É possível reduzir os níveis de lactato pela inserção de RNA interferente nos vetores de expressão de modo a reduzir a expressão génica da enzima que produz o lactato, a lactato desidrogenase (171-174).

7. Novas abordagens no tratamento da AR, por inibição dos TNF- α

A AR é uma patologia ainda sem cura, e os medicamentos existentes para o tratamento, atualmente, não são eficazes em todos os doentes. Existem novas moléculas e novas formas de administração em estudo, que poderão ser inovações promissoras para estes doentes. Uma nova terapêutica em estudo é a aplicação direta de inibidores dos TNF- α no compartimento sinovial, que poderia ser útil nos casos de monoartrite ou oligoartrite persistente, ou em casos de intolerância aos corticoides injetados via intra-articular. Os resultados dos estudos são inconclusivos, embora em alguns estudos tenha sido demonstrado uma possível aplicação terapêutica futura dos anti-TNF- α desta forma. Nestes estudos verificou-se a diminuição da inflamação articular local, com melhoria da atividade da doença na articulação injetada e diminuição da espessura sinovial. Inclusive, foi demonstrada eficácia comparável ao tratamento intra-articular com corticosteroides. A administração intra-articular de etanercept, infliximab e adalimumab numa articulação alvo parece ser eficiente e segura, com baixa ocorrência de efeitos adversos não graves, resultando na melhoria transitória da atividade da doença local. Em outros estudos, a resposta anti-inflamatória foi insuficiente, de curta duração, em contraste com o efeito dos corticosteroides que podem induzir uma remissão na inflamação da articulação tratada por vários meses (175-179).

Outra via de administração em estudo é o *microneedling*. O *microneedling* consiste num sistema de aplicação transdérmica de moléculas de baixo peso molecular através de microagulhas, que poderá constituir uma nova opção terapêutica para pacientes com AR. No tratamento de ratos com artrite induzida, etanercept foi introduzido por *microneedling* com ácido hialurónico. O etanercept é, então, absorvido pelos capilares sanguíneos, e exerce a inibição dos TNF- α no local de ação (180).

Os ratos foram tratados com solução salina, etanercept por via subcutânea e por *microneedling*, durante 10 dias. Os animais tratados com etanercept apresentaram menos inchaço na pata e níveis reduzidos de IL-6 e TNF- α e maior proteção contra a erosão. O efeito terapêutico foi semelhante nos dois grupos sujeitos ao tratamento com etanercept, com aparente efeito mais rápido no grupo tratado por *microneedling*. Este tratamento demonstrou eficiente biocompatibilidade, pouca interferência na atividade do fármaco, e ação biológica do etanercept, com elevada atividade anti-inflamatória, equiparável à administração subcutânea. Os fármacos anti-TNF- α são administrados por via

intravenosa ou subcutânea, o que pode ser um fator de menor adesão à terapêutica pelo que, a administração intradérmica de etanercept com ácido hialurônico reticulado, por *microneedling*, demonstrou potencial para terapêutica futura, menos dolorosa, com possível redução de efeitos adversos relacionados com o local de injeção, e melhor adesão à terapêutica (180).

Novas moléculas, que poderiam ter mecanismos de ação mais eficazes do que os inibidores dos TNF- α atuais, também estão a ser estudadas, como por exemplo os inibidores bifuncionais, formulados para inibir os TNF- α e quimiocinas. As quimiocinas são proteínas que induzem vias de transdução de sinais através de recetores da membrana celular. Participam na resposta imunitária e inflamatória e na homeostase, podendo promover a migração de diferentes células, incluindo leucócitos, neovascularização, entre outros processos. A inibição destas moléculas seria benéfica para o tratamento da AR, mas ainda não há fármacos para esse efeito. Os vírus, como os herpes vírus e os pox vírus, apresentam mecanismos eficazes de inibição das quimiocinas, pela produção de proteínas que se ligam a estas moléculas, bloqueando o reconhecimento e ligação aos respetivos recetores. Existem estudos em modelos animais, em que foram produzidas moléculas a partir de etanercept modificado, pela fusão com inibidores de quimiocinas virais, o que originou moléculas bifuncionais, resultando na inibição dos TNF- α e num efeito inibidor da migração celular induzida por algumas quimiocinas. As proteínas de fusão mostraram diferentes capacidades inibidoras dos TNF- α , sendo que duas, com designação hTNFR2–SCP1 e hTNFR2–SCP3, mostraram atividade semelhante ao etanercept e conseguiram bloquear a migração celular induzida por quimiocinas, dependendo da dose. Destas duas, uma apresentou capacidade inibitória de quimiocinas superior à outra, e, aparentemente, foi necessária uma dose inferior para exercer uma redução significativa dos sintomas da AR, semelhante a etanercept, indicando que a adição do domínio inibidor de quimiocinas poderá originar moléculas mais eficientes no controlo da AR. Mais estudos poderão levar a uma maior compreensão dos mecanismos de ação destas moléculas, que podem ser uma opção futura de tratamento da AR (181).

O atosab é um anticorpo monoclonal com ação seletiva no TNFR1, o principal recetor responsável pela ação pró-inflamatória. É uma versão humanizada do anticorpo H398, de rato, e contém uma porção Fc derivada de IgG1 modificada de modo a ter funções efetoras reduzidas (citotoxicidade mediada por complemento e citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos). A preservação da atividade do TNFR2, que têm funções na sobrevivência celular, homeostase, imunocompetência e regeneração, pode ter vantagens,

e diminuir os eventos adversos. O atrosab demonstrou capacidade de inibição de ligação dos TNF- α aos TNFR1 e inibição da linfotoxina- α , prevenindo a apoptose induzida pelos TNF- α , bem como a produção de IL-6 e IL-8, com dependência com a dose. A semivida observada foi cerca de 10,5 dias (182).

No entanto, o anticorpo bivalente demonstrou ter atividade agonista em TNFR1, por isso foi selecionado um fragmento Fab' monovalente do mesmo, para posterior desenvolvimento. Este fragmento foi avaliado num estudo, em relação à sua atividade inibitória dos TNF- α . Ao contrário do atrosab, não apresenta atividade agonista, e aparenta ter maior afinidade pelos TNFR1. No futuro, se tornar uma alternativa eficaz de tratamento para AR. Contudo, a semivida deste fragmento é mais reduzida que a do anticorpo intacto, o que é uma desvantagem. Vários derivados do fragmento, construídos com vista a aumentar o seu tempo de semivida, foram testados em relação às suas propriedades farmacocinéticas e capacidade de inibição da ligação aos TNFR1. Embora todos apresentassem melhores características farmacocinéticas, a sua afinidade com os TNFR1 foi menor, assim como o seu potencial inibidor da ligação dos TNF- α , sendo necessários mais estudos dos compostos promissores no futuro (183).

O ozoralizumab é um nanocorpo trivalente, que resulta da fusão de dois anticorpos de cadeia pesada anti-TNF- α humanizados derivados de camelídeos e um anticorpo anti-albumina sérica humana. Por ser um nanocorpo tem um pequeno tamanho (cerca de um quarto do tamanho dos anticorpos IgG anti-TNF- α), baixa probabilidade de desenvolvimento de imunogenicidade e maior facilidade de fabrico. A sua função é a inibição dos TNF- α e a ligação à albumina, o que aumenta o tempo de semivida do fármaco (184,185).

Uma vez que a absorção de fármacos por via subcutânea depende do peso molecular, a absorção de ozoralizumab e o início do efeito terapêutico mostrou ser mais rápida que outros inibidores dos TNF- α . Num ensaio clínico que utilizou 30mg e 80mg de ozoralizumab, administrado a cada 4 semanas, em combinação com MTX, o ozoralizumab mostrou diminuir significativamente a atividade da doença, assim como os sintomas e função física, em comparação com placebo (ACR20 atingida foi de 37,3% para placebo + MTX, 79,6% para ozoralizumab 30mg + MTX, e 79,2% para ozoralizumab 80mg + MTX), e prevenir a progressão de danos estruturais na maioria dos pacientes com a doença ativa. Ocorreram eventos adversos, de intensidade leve a moderada, comparáveis aos de outros inibidores dos TNF- α . Foram observados ADAs, mas é esperado que a eficácia e segurança do fármaco se mantenham, embora sejam

necessários mais estudos de longo prazo, para confirmação. Em ratos, os nanocorpos acumulam-se nos tecidos inflamados da AR, uma vez que a albumina se acumula nestes tecidos, e é esperado que nos humanos suceda o mesmo (184,185).

O pegsunercept é uma forma recombinante do recetor solúvel humano TNFR1, conjugada com uma molécula de polietilenoglicol (PEG), de modo a aumentar o seu tempo de semivida. Num estudo randomizado, com duração de 12 semanas, foram avaliados três grupos, placebo, e pacientes que receberam o fármaco nas dosagens de 400 µg/kg ou 800 µg/kg, semanalmente. A administração do fármaco resultou em melhorias dos sintomas da AR. Os pacientes que receberam 800 µg/kg obtiveram resultados significativamente melhores, a resposta ACR20 foi atingida por 45% dos doentes vs. 26% do grupo placebo. As respostas ACR50 para os grupos que receberam 400, 800 µg/kg, ou placebo foram 11%, 22% e 8%, respetivamente. As respostas ACR70 para os grupos que receberam 400, 800 µg/kg, ou placebo foram de 1%, 5% e 3%, respetivamente. A incidência de eventos adversos foi similar entre os grupos, pelo que o pegsunercept pareceu ser seguro e bem tolerado. Embora tivessem ocorrido melhorias significativas na patologia neste estudo, pretende-se obter taxas de melhoria maiores em comparação com placebo, o que significa que o fármaco pode ser eficaz e que são necessários mais estudos para ajustar a dose (186).

Os inibidores dos TNF- α disponíveis por via oral são desejáveis pelas vantagens que poderiam ter: uma maior facilidade de administração, um menor custo de produção, e não apresentariam potencial imunogénico. O SAR441566 é uma molécula pequena, com biodisponibilidade oral, e possível de se utilizar como um medicamento oral. Tem a capacidade de estabilizar uma forma assimétrica dos trímeros de TNF- α solúveis, promovendo a sua dissociação, comprometendo a sua ligação aos recetores, e a respetiva sinalização celular. Devido ao seu tamanho, não é esperado o desencadeamento de imunogenicidade, permitindo manter a sua eficácia durante a toma prolongada. A eficácia do SAR441566 foi avaliada em ratos. Verificou-se uma melhoria dos sinais de artrite, pela diminuição do inchaço e da erosão óssea nos membros dos ratos com doses de 10 e 30mg/kg. Portanto, esta molécula tem o potencial de ser utilizada, no futuro, para o tratamento diário da AR, fornecendo um tratamento eficaz, e uma forma prática de administrar o medicamento aos doentes, comparando com as formas injetáveis (187).

8. Conclusão

A AR é uma patologia sobre a qual existe ainda muita informação a estudar. Os mecanismos subjacentes à inflamação crónica das doenças autoimunes, tais como a AR, são complexos e ainda não totalmente esclarecidos. Os inibidores dos TNF- α foram a primeira classe de medicamentos biológicos aprovados para o tratamento desta patologia, e forneceram uma alternativa terapêutica seletiva para um alvo, com grande eficácia em monoterapia ou em associação com outros DMARDs, proporcionando a grande parte dos doentes o alívio dos sintomas, inibição da progressão da doença e melhoria da qualidade de vida, quando outros medicamentos não foram suficientes para tal. Apesar dos seus benefícios terapêuticos, têm um custo elevado, o que os pode tornar menos acessíveis, não são eficazes em todos os pacientes, e a sua utilização pode trazer efeitos adversos graves. Deste modo, é importante o estudo e desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da AR, incluindo novos inibidores dos TNF- α , sendo que alguns já estão em estudo.

9. Bibliografia

1. Berardicurti, O., Conforti, A., Di Cola, I., Pavlych V., Ruscitti, P., Ursini, F., et al. Beyond the joints, the extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Autoimmunity Reviews*. 2021; 20(2), p. 102735.
2. Artrite Reumatoide. Sociedade Portuguesa de Reumatologia. 2019 (acedido em 7 de Outubro de 2022). Disponível em: <https://spreumatologia.pt/artrite-reumatoide/>
3. Apaolaza I., Geldhof, A., Melsheimer R., Schaible T. Remicade® (infliximab): 20 years of contributions to science and medicine. *Biologics: Targets & Therapy*. 2019; 13, p. 139.
4. Cytokines: Introduction. British Society for Immunology. 2022 (acedido em 7 de Outubro de 2022). Disponível em: <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/receptors-molecules/cytokines-introduction>
5. Cytokines in the balance. *Nature Immunology*. 2019; 20(12), p. 1557.
6. Jang, D., Kang, T., Lee, A., Lee, S., Shin, H., Yang, S., et al. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in Autoimmune Disease and Current TNF- α Inhibitors in Therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(5), p. 1-16.
7. Sgantzios, M., Tsoucalas, G. Primary Asthenic Gout by Augustin-Jacob Landre-Beauvais in 1800: Is this the first description of Rheumatoid Arthritis? *Mediterranean Journal of Rheumatology*. 2017; 28(4), p. 223-226.
8. Copeman W. A short history of gout and the rheumatic diseases. University of California Press. 1964; p. 158.
9. Latham, R. The works of Thomas Sydenham, M.D. The Classics of Medicine Library. 1979.
10. Dequeker, J. Rheumatoid Deformities in Paintings. *Journal of Hand Therapy*. 1996; 9(3), p. 194-197.
11. Rothschild, B., DeLuca, M., Turner, K. Symmetrical Erosive Peripheral Polyarthritis in the Late Archaic Period of Alabama. *Science*. 1988; 241(4872), p. 1498-1501.
12. Paleopathological examination of ancient bones suggests rheumatoid arthritis originated in America. *PANLAR Bulletin*. 1986; 1, p. 4-5.
13. Branco, J., Canhão, H. Estudo Epidemiológico das Doenças Reumáticas em Portugal. *ARP Rheumatology*. 2013; p. 203-204.
14. Buchbinder, R., Carmona, L., Cross, M., Johns, N., March, L., Woolf, A., et al. The global burden of rheumatoid arthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study. *Annals of the rheumatic diseases*. 2014; 73(7), p. 1316-1322.
15. Musculoskeletal health. World Health Organization. 2022 (acedido em 2 de Novembro de 2022). Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/musculoskeletal-conditions>
16. Rheumatoid nodules in rheumatoid arthritis (RA). National Rheumatoid Arthritis Society (NRAS). 2022 (acedido em 2 de Novembro de 2022). Disponível em: <https://nras.org.uk/resource/rheumatoid-nodules/>
17. Chung, C., Oeser, A., Solus, J., Pincus, T., Raggi, P., Stein, C., et al. Inflammation-associated insulin resistance: Differential effects in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus define potential mechanisms. *Arthritis and Rheumatism*. 2008; 58(7), p. 2105-2112.

18. Dessein, P., Joffe, B. Insulin resistance and impaired beta cell function in rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 2006; 54(9), p. 2765-2775.
19. Best, J., Jenkins, A., McColl, G., Toh, L., Wilson, A., Wong, M., et al. Reduced arterial elasticity in rheumatoid arthritis and the relationship to vascular disease risk factors and inflammation. *Arthritis and Rheumatism*. 2003; 48(1), p. 81-89.
20. Raval, G., Mehta, P. TNF- α inhibitors: Are they carcinogenic? *Drug, Healthcare and Patient Safety*. 2010; 2(1), p. 241-247.
21. Bhandari, B., Basyal, B., Nookala, V., Sarao, M., Thein, Y. Prevalence of Cancer in Rheumatoid Arthritis: Epidemiological Study Based on the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Cureus*. 2020; 12(4).
22. Boer, A., Huizinga, T., Van Der Helm-Van Mil, A. Depression and anxiety associate with less remission after 1 year in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2018; 78(1), p. 44-45.
23. Dowlati, Y., Herrmann, N., Liu, H., Reim, E., Sham, L., Swardfager, W., et al. A Meta-Analysis of Cytokines in Major Depression. *Biological Psychiatry*. 2010; 67(5), p. 446-457.
24. Aletaha, D., Naden, R., Neogi, T., Pincus, T., Silman, A., Smolen, J., et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis & Rheumatism*. 2010; 62(9), p. 2569-2581.
25. Breedveld, F., De Jong, B., Frank H., Hazes, J., Schellekens, G., Van Den Hoogen, F., Visser, H., et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis & Rheumatism*. 2000; 43(1), p. 155-163.
26. Eberl, G., Machold, K., Stamm, T. Very recent onset arthritis--clinical, laboratory, and radiological findings during the first year of disease. *The Journal of Rheumatology*. 2002; 29(11).
27. Becker, H., Sauerland, U., Schorat, A., Schotte, H., Seidel, M., Willeke, P., et al. Clinical Utility of the Anti-CCP Assay: Experiences with 700 Patients. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005; 1050(1), p. 314-318.
28. Kastbom, A., Lindroos, A., Skogh, T., Strandberg, G. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2004; 63(9), p. 1085-1089.
29. Scherer, H., Haupl, T., Burmester, G. The etiology of rheumatoid arthritis. *Journal of Autoimmunity*. 2020; 110, p. 10240.
30. Biniecka, M., Fearon, U., Najm, A., Orr, C., Veale, D., Young, F., et al. The Utility and Limitations of CRP, ESR and DAS28-CRP in Appraising Disease Activity in Rheumatoid Arthritis. *Frontiers in Medicine*. 2018; 5(6), p.185.
31. Balsa, A., Bijlsma, J., Boers, M., Burmester, G., Dougados, M., McInnes, I., et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2020; p. 685-699.
32. Firestein, G., McInnes, I. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity*. 2017; 46(2), p.183.
33. Lu, M., Yu, H. The roles of anti-citrullinated protein antibodies in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Tzu-Chi Medical Journal*. 2019; 31(1), p. 5.
34. Frauwirth, K., Thompson, C. Activation and inhibition of lymphocytes by costimulation. *The Journal of Clinical Investigation*. 2002; 109(3), p. 295.

35. Fox, D., Lundy, S., Sarkar, S., Tesmer, L. Cells of the synovium in rheumatoid arthritis. T lymphocytes. *Arthritis Research & Therapy*. 2007; 9(1), p. 202.
36. Alluno, A., Bursi, R., Croia, C., Petrelli, F., Puxeddu, I., Sutura, D., et al. One year in review 2019: pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2019; 37(3), p. 347-357.
37. Guo, Q., Nossent, J., Pavlos, N., Xu D., Xu, J., Wang, Y. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. *Bone Research*. 2018; 6(1).
38. Chen, J., Davis, J., Jeraldo, P., Matteson, E., Nelson, H., Taneja, V., et al. An expansion of rare lineage intestinal microbes characterizes rheumatoid arthritis. *Genome Medicine*. 2016; 8(1), p. 1-14.
39. Bungau, S., Radu, A. Management of Rheumatoid Arthritis: An Overview. *Cells*, 2021; 10(11).
40. Deane, K., Demoruelle, M., Holers, V., Kelmenson, L., Kuhn, K., Norris, J. Genetic and environmental risk factors for rheumatoid arthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2017; 31(1), p. 3-18.
41. Ruiz-Esquide, V., Sanmarti, R. Tobacco and Other Environmental Risk Factors in Rheumatoid Arthritis. *Reumatología Clínica (English Edition)*. 2012; 8(6), p.342-350.
42. Alpízar-Rodríguez, D., Finckh, K., Gilbert, B. The Role of Nutritional Factors and Intestinal Microbiota in Rheumatoid Arthritis Development. *Nutrients*. 2020; 13(1), p. 96.
43. Chen, Z., Elshabrawy, H., Ravella, S., Shahrara, S., Virupannavar, S., Volin, M., The Pathogenic Role of Angiogenesis in Rheumatoid Arthritis. *Angiogenesis*. 2015; 18(4), p. 433.
44. Alfredsson, L., Klareskog, L., Padyukov, L., Suva, C., Stolt, P. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism*. 2004; 50(10), p. 3085-3092.
45. Bathon, J., Carandang, K., Deane, K., Singh, N., Turgunbaev, M., Turner, A., et al. 2021 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Care and Research*. 2021; 73(7), p. 924-939.
46. Dale, H., Flower, R., Rang, H., Ritter, J. Fármacos anti-inflamatórios e imunossupressores. In Rang&Dale Farmacologia. Rio de Janeiro: Elsevier Editora, 2008. ISBN 978-85-352-2243-2. P. 226-245.
47. Dipiro, C., Dipiro, J., Schwinghammer, T., Wells, B. Artrite Reumatoide. In Manual de Farmacoterapia. Porto Alegre: AMGH Editora, 2016. ISBN 978-85-8055-559-2. P. 56-70.
48. Aletaha, D., McInnes, I., Smolen, J. Rheumatoid arthritis. *The Lancet*. 2016; 388(10055), p. 2023-2038.
49. Chandran, B., Goel, A. A Randomized, Pilot Study to Assess the Efficacy and Safety of Curcumin in Patients with Active Rheumatoid Arthritis. *Phytotherapy Research*, 2012; 26(11), p. 1719-1725.
50. Davis, L., Lipsky, P., Tao, X. Effect of an Extract of the Chinese Herbal Remedy *Tripterygium Wilfordii* Hook F on Human Immune Responsiveness. *Arthritis & Rheumatism*. 1991; 34(10), p. 1274-1281.
51. Fan, F., Tao, X., Younger, J. Benefit of an extract of *Tripterygium Wilfordii* Hook F in patients with rheumatoid arthritis: A double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis & Rheumatism*. 2002; 46(7), p. 1735-1743.

52. Jacobson, E., Rossetti, R., Zurier, R. Gamma-linolenic acid treatment of rheumatoid arthritis: A Randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis & Rheumatism*. 1996; 39(11), p.1808-1817.
53. Dooper, M., Graus, Y., M'Rabet, L., Van Riel, B. Dihomo- γ -linolenic acid inhibits tumour necrosis factor- α production by human leucocytes independently of cyclooxygenase activity. *Immunology*. 2003; 110(3), p. 348.
54. Brady, T., Buysse, K., Callahan, L., Freburger, J., Mielenz, T., Schwartz, T., et al. A randomized controlled trial of the people with arthritis can exercise program: Symptoms, function, physical activity, and psychosocial outcomes. *Arthritis Care and Research*. 2008; 59(1), p. 92-101.
55. Kavuncu, V., Evcik, D. Physiotherapy in Rheumatoid Arthritis. *Medscape General Medicine*. 2004; 6(2).
56. Brosseau, L., Yonge, K., Welch, V., Judd, M., Wells, G., Tugwell, P., et al. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for the treatment of rheumatoid arthritis in the hand. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2003; 2010(7).
57. Davis, M., Tennen, H., Wolf, L., Yeung, E., Zautra, A. Mindfulness and Cognitive-behavioral Interventions for Chronic Pain: Differential Effects on Daily Pain Reactivity and Stress Reactivity. *Journal of consulting and clinical psychology*. 2015; 83(1), p. 24.
58. Aggarwal, B., Gupta, S., Kim, J. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. *Blood*. 2012; 119(3), p. 651.
59. Bałkowiec-Iskra, E., Kuzawińska, O., Lis, K. Tumor necrosis factor inhibitors – state of knowledge. *Archives of Medical Science: MAS*. 2014; 10(6), p. 1175.
60. Hošek, J., Zelová, H. TNF- α signalling and inflammation: Interactions between old acquaintances. *Inflammation Research*. 2013; 62(7), p. 641-651.
61. Baker, S., Hale, K., Smith, C. Multifunctional Regulation of the Biological Effects of TNF- α by the Soluble Type I and Type II TNF Receptors. *Cytokine*. 1995; 7(1), p. 26-38.
62. Baron, B., Farrugia, M. The role of TNF- α in rheumatoid arthritis: a focus on regulatory T cells. *Journal of Clinical and Translational Research*. 2016; 2(3), p. 84.
63. Bessis, N., Biton, J., Boissier, M., Delavallée, L., Grouard-Vogel, G., Semerano, L., et al. Interplay between TNF and Regulatory T Cells in a TNF-Driven Murine Model of Arthritis. *The Journal of Immunology*. 2011; 186(7), p. 3899-3910.
64. Giralt, M., Hidalgo, J., Keller, P. Exercise normalises overexpression of TNF- α in knockout mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2004; 321(1), p. 179-182.
65. Kitas, G., Metsios, G. Physical activity, exercise and rheumatoid arthritis: Effectiveness, mechanisms and implementation. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2018; 32(5), p. 669-682.
66. Febbraio, M., Jauffred, S., Ostrowski, S., Pedersen, B., Sisse, T., Starkie, R., Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF- α production in humans. *The FASEB Journal*. 2003; 17(8), p. 1-10.
67. Bowdish, D., Heisz, J. Loukov, D., Paolucci, E. Exercise reduces depression and inflammation but intensity matters. *Biological Psychology*. 2018; 133(3), p. 79-84.
68. Bulló, M., García-Lorda, P., Megias, I., Salas-Salvadó, J. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. *Obesity Research*. 2003; 11(4), p. 525-531.

69. Dandona, P., Thusu, K., Weinstock, R. Tumor Necrosis Factor- α in Sera of Obese Patients: Fall with Weight Loss. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998; 83(8), p. 2907-2910.
70. Relatório Público de Avaliação. Infarmed. 2021 (acedido em 2 de Novembro de 2022). Disponível em: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/1424140/Relat%C3%B3rio+de+avalia%C3%A7%C3%A3o+de+financiamento+p%C3%ABlico+de+Xeljanz+%28Tofacitinib%29%2%A0+2021/d4655ab0-5119-ef37-ba96-0459c7a3f616>
71. Jin, H., Li, X., Yan, C., Yu, X. Tumor necrosis factor receptor 1 expression and early spontaneous abortion. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2005; 88(1), p. 44-48.
72. Breuil, V., Brocq, O., Roux, C. Pregnancy in rheumatology patients exposed to anti-tumour necrosis factor (TNF)- α therapy. *Rheumatology*. 2007; 46(4), p. 695-698.
73. Bröms, G., Ekblom, A., Kieler, H. Anti-TNF treatment during pregnancy and birth outcomes: A population-based study from Denmark, Finland, and Sweden. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*. 2020; 29(3), p. 316-327.
74. Simister, N. Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine*. 2003; 23(24), p. 3365-3369.
75. Matteson, E., Michet, C. Pulido, J., Raja, H., Smith, J. Safety of Tumor Necrosis Factor Inhibitors during Pregnancy and Breastfeeding. *Translational Vision Science & Technology*. 2012; 1(2), p. 6.
76. Ishii-Watabe, A., Suzuki, T., Tada, M. Importance of Neonatal FcR in Regulating the Serum Half-Life of Therapeutic Proteins Containing the Fc Domain of Human IgG1: A Comparative Study of the Affinity of Monoclonal Antibodies and Fc-Fusion Proteins to Human Neonatal FcR. *The Journal of Immunology*. 2010; 184(4), p. 1968-1976.
77. Arora, T., Kohno, T., Liu, L., Louie, J., Padaki, R., Stevens, S., et al. Differences in binding and effector functions between classes of TNF antagonists. *Cytokine*. 2009. 45(2), p. 124-131.
78. Malemud, C. Apoptosis Resistance in Rheumatoid Arthritis Synovial Tissue. *Journal of Clinical & Cellular Immunology*. 2012; 1(3).
79. Fossati, G., Nesbitt, A. In Vitro Complement-Dependent Cytotoxicity and Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity by the Anti-TNF Agents Adalimumab, Etanercept, Infliximab, and Certolizumab Pegol (CDP870). *The American Journal of Gastroenterology*. 2005; 100, p. 299.
80. Libert, C., Steeland, S., Vandenbroucke, R. A new venue of TNF targeting. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19(5), p. 1-55.
81. Dekleva, V., Pap, M., Sapina, I. Anti-TNF Therapy and The Risk of Malignancies and infections in Inflammatory Rheumatic Diseases - Our Experience. *Psychiatria Danubina*. 2021; 33.
82. Chan, J., Flynn, J., Mohan, V., Scanga, C., Tsai, M., Yu, K., et al. Effects of tumor necrosis factor alpha on host immune response in chronic persistent tuberculosis: Possible role for limiting pathology. *Infection and Immunity*. 2001; 69(3), p. 1847-1855.
83. Chakr, R. Neyeloff, J., Papke, A., Picon, P., Sartori, N. A population-based study of tuberculosis incidence among rheumatic disease patients under anti-TNF treatment. *PLoS ONE*. 2019; 14(12), p. 1-14.
84. Frerix, M., Hermann, W., Meier, F., Müller-Ladner, U. Current immunotherapy in rheumatoid arthritis. *Immunotherapy*. 2013; 5(9), p. 955-974.

85. Berghen, N., Teuwen, L., Verschueren, P., Westhovens, R. Malignancies and anti-TNF therapy in rheumatoid arthritis: a single-center observational cohort study. *Clinical Rheumatology*. 2015; 34(10), p. 1687-1685.
86. Ali, F., Laughlin, R. Asymptomatic CNS demyelination related to TNF- α inhibitor therapy. *Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation*. 2017; 4(1), p. 298.
87. Bacquet-Deschryver, H., Daragon, A., Jouen, F., Mejjad, O., Quillard, M., Tron, F., et al. Impact of three anti-TNF α biologics on existing and emergent autoimmunity in rheumatoid arthritis and spondylarthropathy patients. *Journal of Clinical Immunology*. 2008; 28(5), p. 445-455.
88. Guess, H., Rhodes, T., Watson, D. All-cause mortality and vascular events among patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, or no arthritis in the UK General Practice Research Database. *The Journal of Rheumatology*. 2003; 30(6).
89. Konig, A., Marin-Garcia, J., Moe, G. In vivo TNF- α inhibition ameliorates cardiac mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and apoptosis in experimental heart failure. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 2004; 287(10).
90. Bernatsky, S., Hudson, M., Suissa, S. Anti-rheumatic drug use and risk of hospitalization for congestive heart failure in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2005; 44(5), p. 677-680.
91. Douglas L., Feldman, A., Soran, O. Results of Targeted Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy with Etanercept (ENBREL) in Patients with Advanced Heart Failure. *Circulation*. 2001; 103(8), p. 1044-1047.
92. Kwon, H., Coté, T., Cuffe, M. Case Reports of Heart Failure after Therapy with a Tumor Necrosis Factor Antagonist. *Annals of Internal Medicine*. 2003; 138(10).
93. Chung, E., Fasanmade, A., Lo, K, Packer, M., Willerson, J. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Pilot Trial of Infliximab, a Chimeric Monoclonal Antibody to Tumor Necrosis Factor- α , in Patients with Moderate-to-Severe Heart Failure. *Circulation*. 2003; 107(25), p. 3133-3140.
94. Fleming, T., Mann, D., McMurray, J., Packer, M., Westheim, A., Zannad, F., et al. Targeted Anticytokine Therapy in Patients with Chronic Heart Failure. *Circulation*. 2004; 109(13), p. 1594-1602.
95. Chan, T., Feldman, A., Frye, C., Higuchi, Y., McGowan, B., McTiernan, C. Tumor Necrosis Factor Receptors 1 and 2 Differentially Regulate Survival, Cardiac Dysfunction, and Remodeling in Transgenic Mice with Tumor Necrosis Factor- α -Induced Cardiomyopathy. *Circulation*. 2004; 109(15), 1892-1897.
96. Metsios, G., Kitas, G., Koutedakis, Y., Nightingale, P., Panoulas, V., Stavropoulos-Kalinoglou, A. Anti-tumour necrosis factor alpha therapy improves insulin sensitivity in normal-weight but not in obese patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Research and Therapy*. 2012; 14(4), p. 1-7.
97. Giralt, M., Keller, C., Keller, P. Exercise normalises overexpression of TNF- α in knockout mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2004; 321(1), p. 179-182.
98. Wang, L., Xie, W., Zhou, Y. Anti-tumor Necrosis Factor-Alpha Therapy and Hypoglycemia: A Real-World Pharmacovigilance Analysis. *Drug Safety*. 2022; 45(9), p. 951-959.
99. Bach, E. Nielsen, R., Vendelbo, M. Direct Effects of TNF- α on Local Fuel Metabolism and Cytokine Levels in the Placebo-Controlled, Bilaterally Infused Human Leg Increased Insulin Sensitivity, Increased Net Protein Breakdown, and Increased IL-6 Release. *Diabetes*. 2013; 62(12), p. 4023-4029.

100. De Groot, A., Scott, D. Immunogenicity of protein therapeutics. *Trends in Immunology*. 2007; 28(11), p. 482-490.
101. Breedveld, F., Christian, A., Ferdinand, C., Joachin, K., Kalden, J., Maini, R., et al. Therapeutic efficacy of multiple intravenous infusions of anti-tumor necrosis factor α monoclonal antibody combined with low-dose weekly methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatology*. 1998; 41(9), p. 1152-1563.
102. Bucci, R., Caporali, R., Favalli, E., Gremese, E., Iannone, F., Todoerti, M., et al. Switch or swap strategy in rheumatoid arthritis patients failing TNF inhibitors? Results of a modified Italian Expert Consensus. *Rheumatology*. 2018; 57(10), p. 42-53.
103. Heo, Y., Lee, H., Lee, J., Lim, H., Shin, W., Son, Ji Y., et al. Structural Biology of the TNF α Antagonists Used in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19(3).
104. Felis-Giemza, A., Olesińska, M., Paradowska-Gorycka, A., Romanowska-Próchnicka, K., Szukiewicz, D., Wojdasiewicz, P. The Role of TNF- α and Anti-TNF- α Agents during Preconception, Pregnancy, and Breastfeeding. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(6), p. 2922.
105. Brown, D., Fossati, G., Nesbitt, A. Comparison of Certolizumab Pegol, Etanercept, Adalimumab and Infliximab. *The American College of Gastroenterology*. 2006; 101, p. 436-437.
106. Andreesen, R., Eissner, G., Haffner, S., Holler, E., Kirchner, S. Effect of different tumor necrosis factor (TNF) reactive agents on reverse signaling of membrane integrated TNF in monocytes. *Cytokine*. 2004; 28(2), p. 67-74.
107. Caeyers, N., Cutolo, M., Hoeltzenbein, M., Skorpen, C., Tincani, A., Zumbühl, C., et al. The EULAR points to consider for use of antirheumatic drugs before pregnancy, and during pregnancy and lactation. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2016; 75(5), p. 795-810.
108. Correr, C., Grochocki, M., Otuki, M., Pontarolo, R., Venson, R., Wiens, A. A meta-analysis of the efficacy and safety of using infliximab for the treatment of rheumatoid arthritis. *Clinical Rheumatology*. 2009; 28(12), p. 1365-1373.
109. Cai, A., Rosenberg, A., Shealy, D., Solowski, N., Song, X., Wagner, C., et al. Binding and Functional Comparisons of Two Types of Tumor Necrosis Factor Antagonists. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2002; 301(2), p. 418-426.
110. Fujita, S., Harada, M., Hatta, N., Horiuchi, T., Mitoma, H., Okamura, S., et al. Infliximab induces potent anti-inflammatory responses by outside-to-inside signals through transmembrane TNF- α . *Gastroenterology*. 2005; 128(2), p. 376-392.
111. Feldmann, M., Maini, R., Mccloskey, R., Paleolog, E., Peters, A., Taylor, P., et al. Reduction of chemokine levels and leukocyte traffic to joints by tumor necrosis factor α blockade in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 2000; 43(1), p. 38-47.
112. Ehrenstein, M., Evans, J., Isenberg, D., Mauri, C., Singh, A., Warnes, G., et al. Compromised Function of Regulatory T Cells in Rheumatoid Arthritis and Reversal by Anti-TNF Therapy. *The Journal of Experimental Medicine J. Exp. Med.* 2004; 200(3).
113. Bendtzen, K., Geborek, P., Kapetanovic, M., Larsson, L., Saxne, T., Svenson, M., et al. Individualized monitoring of drug bioavailability and immunogenicity in rheumatoid arthritis patients treated with the tumor necrosis factor α inhibitor infliximab. *Arthritis & Rheumatism*. 2006; 54(12), p. 3782-3789.

114. Atkins, C., Malaise, M., Sany, J., et al. Efficacy and safety of adalimumab as monotherapy in patients with rheumatoid arthritis for whom previous disease modifying antirheumatic drug treatment has failed. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2004; 63(5), p. 508-516.
115. Fischkoff, S., Kaul, M., Kupper, H., Oberoi, R., Schuett, H., Schuett, J., et al. Targeting Tumor Necrosis Factor- α with Adalimumab: Effects on Endothelial Activation and Monocyte Adhesion. *PLoS ONE*. 2016; 11(7), p. 1601.
116. Chartash, E., Furst, D., Fischkoff, S., Keystone, E., Teoh, L., Weinblatt, M., et al. Adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor α monoclonal antibody, for the treatment of rheumatoid arthritis in patients taking concomitant methotrexate: The ARMADA trial. *Arthritis & Rheumatism*. 2003; 48(1), p. 35-45.
117. Bloomfield, R., Feagan, B., Mason, D., Sandborn, W., Stoinov, S., Schreiber, S., et al. Certolizumab pegol for the treatment of Crohn's disease. *The New England journal of medicine*. 2007; 357(3), p. 228-238.
118. Brezinschek, H., Fleischmann, R., Innes, A., Strand, V., Van Vollenhoven, R., Vencovsky, J., et al. Efficacy and safety of certolizumab pegol monotherapy every 4 weeks in patients with rheumatoid arthritis failing previous disease-modifying antirheumatic therapy: the FAST4WARD study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2009; 68(6), p. 805.
119. Bugelski, P., Cai, A., Scallon, B., Shealy, D., Staquet, K., Zhou, H., et al. Characterization of golimumab, a human monoclonal antibody specific for human tumor necrosis factor α . *Landes Bioscience*. 2010; 2(4), p. 428-439.
120. Davis, H., Snead, Wang, Q., Xu, Z., Zhou, H., Zhuang, Y., D., et al. Subcutaneous Bioavailability of Golimumab at 3 Different Injection Sites in Healthy Subjects. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2010; 50(3), p. 276-284.
121. Baker, D., Beutler, A., Hu, C., Lee, H., Ling, J., Pendley, C., et al. Population Pharmacokinetics of Golimumab, an Anti-Tumor Necrosis Factor- α Human Monoclonal Antibody, in Patients with Psoriatic Arthritis. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2009; 49(9), p. 1056-1070.
122. Ayabe, K., Okamura, K., Okura, C., Takeuchi, K., Tetsuya, K., Yonemoto, Y., et al. Comparison of golimumab 100-mg monotherapy to golimumab 50 mg plus methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: Results from a multicenter, cohort study. *Modern Rheumatology*. 2016; 26(1), p. 24-28.
123. Catrina, A., Engstrom, M., Hermansson, Y., Klareskog, L., Trollmo, C., Ulfgren, A., et al. Evidence that anti-tumor necrosis factor therapy with both etanercept and infliximab induces apoptosis in macrophages, but not lymphocytes, in rheumatoid arthritis joints. *Arthritis & Rheumatism*. 2005; 52(1), p. 61-72.
124. Chwiecko, J., Domyslawska, I., Klimiuk, P., Sierakowski, S. Effect of etanercept on serum levels of soluble cell adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1, and sE-selectin) and vascular endothelial growth factor in patients with rheumatoid arthritis. *Scandinavian Journal of Rheumatology*. 2009; 38(6), p. 439-444.
125. Calmon-Hamaty, F., Combe, B., Hahne, M., Morel, J. Lymphotoxin α stimulates proliferation and pro-inflammatory cytokine secretion of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Cytokine*. 2011; 53(2), p.207-214.
126. Catrina, A., Engström, M., Klint, E., Krishnamurthy, A, Neregård, P., Revu, S. Etanercept decreases synovial expression of tumour necrosis factor- α and lymphotoxin- α in rheumatoid arthritis. *Scandinavian Journal of Rheumatology*. 2014; 43(2), p. 85-90.

127. Felson, D., LaValley, M. The ACR20 and defining a threshold for response in rheumatic diseases: Too much of a good thing. *Arthritis Research and Therapy*. 2014; 16(1), p. 1-5.
128. Bathon J., Cannon, G., Finck, B., Genovese, M., Martin, R., Spencer-Green, G., et al. Etanercept versus methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis: Two-year radiographic and clinical outcomes. *Arthritis and Rheumatism*. 2002; 46(6), p. 1443-1450.
129. Baumgartner, S., Blosch, C., Lange, M., McDonnell, N., Moreland, L., Schiff, M., et al. Etanercept therapy in rheumatoid arthritis: A randomized, controlled trial. *Annals of Internal Medicine*. 1999; 130(6), p. 478-486.
130. Aniel, D., Ange, L., Bankhurst, A., Kremer, J., Urge, J., Weinblatt, M., et al. A Trial of Etanercept, a Recombinant Tumor Necrosis Factor Receptor:Fc Fusion Protein, in Patients with Rheumatoid Arthritis Receiving Methotrexate. *New England Journal of Medicine*. 1999; 340(4), p. 253-259.
131. Gough, A., Kalden, J., Malaise, M., Pavelka, K., Sany, J., Settas, L., et al. Therapeutic effect of the combination of etanercept and methotrexate compared with each treatment alone in patients with rheumatoid arthritis: Double-blind randomised controlled trial. *The Lancet*. 2004; 363(9410), p. 675-681.
132. Breedveld, F., Emery, P., Hall, S., Koenig, A., Pedersen, R., Singh, A., et al. Comparison of methotrexate monotherapy with a combination of methotrexate and etanercept in active, early, moderate to severe rheumatoid arthritis (COMET): a randomised, double-blind, parallel treatment trial. *The Lancet*. 2008; 372(9636), p. 375-382.
133. Bolosiu, H., Codreanu, C., Fatenejad, S., Klareskog, L., Pedersen, R., Wajdula, J., et al. Comparison of etanercept and methotrexate, alone and combined, in the treatment of rheumatoid arthritis: Two-year clinical and radiographic results from the TEMPO study, a double-blind, randomized trial. *Arthritis & Rheumatism*. 2006; 54(4), p. 1063-1074.
134. Aarden, L., Dijkmans, B., Lems, W., Tak, P., Vis, M., Wolbink, G., et al. Development of antiinfluximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 2006; 54(3), p. 711-715.
135. Finckh, A., Gabay, C., Guerne, P., Simard, J. Evidence for differential acquired drug resistance to anti-tumour necrosis factor agents in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2006; 65(6), p. 746-752.
136. Ainsworth, M., Bendtzen, K., Brynskov, J., Steenholdt, C., Svenson, M., Thomsen, O., et al. Severe infusion reactions to infliximab: aetiology, immunogenicity and risk factors in patients with inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2011; 34(1), p. 51-58.
137. Feldmann, M., Harriman, G., Ivan D., Lipsky, P., Muravyova, M., Nikolaychenko, N., et al. Productivity and plant protection from diseases and pests of milk thistle (variety amulet) in chernozems in the steppe zone of the Volga region. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017; 9(7), p. 1164-1168.
138. Breedveld, F., Furst, D., Kalden, J., Maini, R., Smolen, J., Weisman, M., et al. Sustained improvement over two years in physical function, structural damage, and signs and symptoms among patients with rheumatoid arthritis treated with infliximab and methotrexate. *Arthritis and rheumatism*. 2004; 50(4), p. 1051-1065.

139. Antoni, C. Burmester, G., Kalden, J., Krüger, K., Nüßlein, H., Wollenhaupt, J., Combination treatment with infliximab and leflunomide in patients with active rheumatoid arthritis: Safety and efficacy in an open-label clinical trial. *Clinical and Experimental Rheumatology*. 2008; 26(3), p. 834-840.
140. Humira. European Medicines Agency. 2022 (acedido em 20 de Novembro de 2022). Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/humira>
141. Assche, G., Ceuppens, J., Colpaert, S., Shen, C., Geboes, K., Rutgeerts, P., et al. Adalimumab induces apoptosis of human monocytes: A comparative study with infliximab and etanercept. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2005; 21(3), p.251-258.
142. Abud-Mendoza, C., Baranda, L., González-Amaro, R., Paredes-Saharopulos, O., Portillo-Salazar, H., Vigna-Pérez, M., et al. Immune effects of therapy with Adalimumab in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical and Experimental Immunology*. 2005; 141(2), p. 372-380.
143. Chartash, E., Fischkoff, S., Furst, D., Granneman, G., Moreland, L., Weisman, M., et al. Efficacy, pharmacokinetic, and safety assessment of adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor- α monoclonal antibody, in adults with rheumatoid arthritis receiving concomitant methotrexate: A pilot study. *Clinical Therapeutics*. 2003; 25(6), p. 1700-1721.
144. Aarden, L., Bartelds, G., Dijkmans, B., Krieckaert, C., Nurmohamed, M., Wolbink, G., et al. Development of Antidrug Antibodies Against Adalimumab and Association with Disease Activity and Treatment Failure During Long-term Follow-up. *JAMA*. 2011; 305(14), p. 1460-1468.
145. Dougados, M., Fischkoff, S., Kaul, M., Kupper, H., Nash, P., Todesco, S., et al. Efficacy and safety of adalimumab as monotherapy in patients with rheumatoid arthritis for whom previous disease modifying antirheumatic drug treatment has failed. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2004; 63(5), p. 508-516.
146. Choy, E., Hazleman, B., Isenberg, D., Patel, J., Smith, M., Sopwith, M., et al. Efficacy of a novel PEGylated humanized anti-TNF fragment (CDP870) in patients with rheumatoid arthritis: a phase II double-blinded, randomized, dose-escalating trial. *Rheumatology*. 2002; 41(10), p. 1133-1137.
147. Bergin, M., Bourne, T., Brown, D., Fossati, G., Nesbitt, A., Robinson, M., et al. Mechanism of action of certolizumab pegol (CDP870): In vitro comparison with other anti-tumor necrosis factor α agents. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2007; 13(11), p. 1323-1332.
148. Bitoun, S., Correia, E., Maillère, B., Mariette, X., Meunier, S., Nozach, H., et al. Pegylation Reduces the Uptake of Certolizumab Pegol by Dendritic Cells and Epitope Presentation to T-Cells. *Frontiers in Immunology*. 2022, 13(2).
149. Abraham, B., Chakravarty, E., Flynn, A., Förger, F., Helmer, E., Wang, M., et al. Lack of placental transfer of certolizumab pegol during pregnancy: results from CRIB, a prospective, postmarketing, pharmacokinetic study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2018; 77(2), p.228.
150. Davies, O., Duncan, B., Fleischmann R., Goel, N., Huizinga, T., Weinblatt, M., et al. Efficacy and safety of certolizumab pegol in a broad population of patients with active rheumatoid arthritis: results from the REALISTIC phase IIIb study. *Rheumatology*. 2012; 51(12), p. 2204-2214.
151. Burmester, G., Landewé, R., Mease, P., Schiff, M., Smolen, J., Strand, V., et al. Efficacy and safety of certolizumab pegol plus methotrexate in active rheumatoid

- arthritis: the RAPID 2 study A randomised controlled trial. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2009; 68(6), p. 797-804.
152. Emery, P., Fleischmann, R., Moreland, L., Rahman, M., Visvanathan, S., Xu, W., et al. Golimumab, a human anti-tumor necrosis factor α monoclonal antibody, injected subcutaneously every four weeks in methotrexate-naïve patients with active rheumatoid arthritis: Twenty-four-week results of a phase III, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study of golimumab before methotrexate as first-line therapy for early-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 2009; 60(8), p. 2272-2283.
 153. Genovese, M., Keystone, E., Klareskog, L., Palmer, W., Wiekowski, M., Zrubek, J., et al. Golimumab, a human antibody to tumour necrosis factor α given by monthly subcutaneous injections, in active rheumatoid arthritis despite methotrexate therapy: the GO-FORWARD Study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2009; 68(6), p. 789.
 154. Airaksinen, M., Luukkanen, S., Saarukka, L., Tolonen, H. The Price and Market Share Evolution of the Original Biologics and Their Biosimilars in Finland. *Biodrugs*. 2022; 36(4), p. 537.
 155. Bermejo, T., Bissig, M., Crommelin, D., Daan, C., Rambourg, P., Tredree, R., et al. Pharmaceutical evaluation of biosimilars: important differences from generic low-molecular-weight pharmaceuticals. *The European Journal of Hospital Pharmacy Science*. 2005; 11, p. 11-17.
 156. Medicamentos biossimilares na UE. European Medicines Agency. 2017. (acedido a 10 de Janeiro de 2023) Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/leaflet/biosimilars-eu-information-guide-healthcare-professionals_pt.pdf
 157. Ludwig, H., Mellstedt, H., Niederwieser, D. The challenge of biosimilars. *Annals of Oncology*. 2008; 19(3), p. 411-419.
 158. Assunção H., Bernardes, M., Cunha, M., Monteiro, A., Pinheiro, F., Pinto, A., et al. Effectiveness and safety of original and biosimilar etanercept (Enbrel® vs Benepali®) in bDMARD-naïve patients in a real-world cohort of Portugal. *ARP Rheumatology*. 2022; 2, 109-116.
 159. Cai, C., Hua, S., Palaparthi, R., Salts, S., Udata, C., Yin, D., et al. 2018. A randomized study comparing the pharmacokinetics of the potential biosimilar PF-06438179/GP1111 with Remicade® (infliximab) in healthy subjects (REFLECTIONS B537-01). *Expert Review of Clinical Immunology*, 14(4), 329-336.
 160. Jaworski, J., Miranda, P., Prodanovic, N., Lee, S., Kim, S., Park, W., et al. Efficacy and safety of CT-P13 (biosimilar infliximab) in patients with rheumatoid arthritis: comparison between switching from reference infliximab to CT-P13 and continuing CT-P13 in the PLANETRA extension study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2017; 76(2), p. 355.
 161. Buer, L., Cvanarova, M., Høivik, M., Medhus, A., Moum, Bj., Warren, D. Switching from Remicade® to Remsima® is well Tolerated and Feasible: A Prospective, Open-label Study. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2017; 11(3), p. 297-304.
 162. Choy, E., Cohen, S., Genovese, M., Kaur, P., Shergy, W., Zhang, N., et al. Efficacy and safety of the biosimilar ABP 501 compared with adalimumab in patients with moderate to severe rheumatoid arthritis: a randomised, double-blind, phase III equivalence study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2017; 76(10), p.1679.

163. Mitra, S., Tomar, P. Hybridoma technology; advancements, clinical significance, and future aspects. *Journal of Genetic Engineering & Biotechnology*. 2021; 19(1), p. 159.
164. Roberts, M. Recombinant DNA technology and DNA sequencing. *Essays in Biochemistry* 2019; 63(4), p. 457-468.
165. Frenzel, A., Hust, M., Schirrmann, T. Phage display-derived human antibodies in clinical development and therapy. *mAbs*. 2016; 8(7), p. 1177.
166. Blattner, C., Mahboudi, F., Omidinia, E., Tabasinezhad, M., Walther, T., Wenzel, W., et al. The transient production of anti-TNF- α antibody Adalimumab and a comparison of its characterization to the biosimilar Cinorra. *Protein Expression and Purification*. 2019; 155(3), p. 59-65.
167. Amziani, R., Gaillet, B., Garnier, A., Gilbert, R., Massie, B., Mullick, A., et al. High-Level Recombinant Protein Production in CHO Cells Using an Adenoviral Vector and the Cumate Gene-Switch. *Biotechnology Progress*. 2007; 23(1), p. 200-209.
168. Sola, R., Griebenow, K. Effects of Glycosylation on the Stability of Protein Pharmaceuticals. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2009; 98(4), p.1223.
169. Bandehpour, M., Ghasemi, N., Ranjbari, J. Optimization of Key Factors in Serum Free Medium for Production of Human Recombinant GM-CSF Using Response Surface Methodology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2019; 18(9), p. 146.
170. Ghaderi, D., Hurtado-Ziola, N., Varki A., Zhang, M. Production platforms for biotherapeutic glycoproteins. Occurrence, impact, and challenges of non-human sialylation. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*. 2012; 28, p. 147-176.
171. Dübel, S., Jostock, T., Li, J., Meier, D., Menzel, C., Zhang, C. A comparative study of different vector designs for the mammalian expression of recombinant IgG antibodies. *Journal of Immunological Methods*. 2007; 318(1), p. 113-124.
172. Feng, X., Jia, Y., Wang, X., Xu, D., Tian, Zhang, Y., Zheng W., et al. SV40 intron, a potent strong intron element that effectively increases transgene expression in transfected Chinese hamster ovary cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2018; 22(4), p. 2231-2239.
173. Al-Rubeai, M., Krampe, B. Cell death in mammalian cell culture: molecular mechanisms and cell line engineering strategies. *Cytotechnology 2010*. 2010; 62(3), p. 175-188.
174. Kim, S., Lee, G. Down-regulation of lactate dehydrogenase-A by siRNAs for reduced lactic acid formation of Chinese hamster ovary cells producing thrombopoietin. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2007; 74(1), p. 152-159.
175. Aalbers, C., Gerlag, D., Vos, K., et al. Intra-articular etanercept treatment in inflammatory arthritis: A randomized double-blind placebo-controlled proof of mechanism clinical trial validating TNF as a potential therapeutic target for local treatment. *Joint Bone Spine*. 2015; 82(5), p. 338-344.
176. Bliddal, H., Boesen, M., Holm, C., Qvistgaard, E., Rogind, H., Terslev, L., et al. A randomized, controlled study of a single intra-articular injection of etanercept or glucocorticosteroids in patients with rheumatoid arthritis. *Scandinavian Journal of Rheumatology*. 2009; 35(5), p. 341-345.
177. Argyropoulou, M., Drosos, A., Efremidis, S., Nikas, S., Temekonidis, T., Zikou, A. Treatment of resistant rheumatoid arthritis by intra-articular infliximab

- injections: a pilot study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2004; 63(1), p. 102-103.
178. Kobak, S. Osteonecrosis and monoarticular rheumatoid arthritis treated with intra-articular adalimumab. *Modern Rheumatology*. 2008; 18(3), p. 290-292.
 179. Allaart, C., Breedveld, F., Huizinga, T., Teng, Y., Van Der Bijl, A., Van Oosterhout, M. Efficacy of intraarticular infliximab in patients with chronic or recurrent gonarthrosis: A clinical randomized trial. *Arthritis Care and Research*. 2009; 61(7), p. 974-978.
 180. Cao, J., Han, J., Wang, Z., Yang, J., Zhang, N., Zhao, Y., et al. Microneedle-Assisted Transdermal Delivery of Etanercept for Rheumatoid Arthritis Treatment. *Pharmaceutics* 2019. 2019; 11(5), p. 235.
 181. Alcamí, A., Alejo, A., Amu, S., Sánchez, C., Fallon, P. Addition of a Viral Immunomodulatory Domain to Etanercept Generates a Bifunctional Chemokine and TNF Inhibitor. *Journal of Clinical Medicine*. 2020; 9(1).
 182. Kontermann, R., Landauer, K., Lorenz, V., Pfizenmaier, K., Scheurich, P., Zettlitz, K., et al. Atrosab, a humanized antagonistic anti-tumor necrosis factor receptor one-specific antibody. *mAbs*. 2010; 2(6), p. 639-647.
 183. Herrmann, A., Pfizenmaier, K., Richter, F., Scheurich, P., Seifert, O., Zettlitz, K., et al. Monovalent TNF receptor 1-selective antibody with improved affinity and neutralizing activity. *mAbs*. 2019; 11(1), p. 166-177.
 184. Kawanishi, M., Nakanishi, M., Tanaka, Y., Takeuchi, T., Yamasaki, H. Phase II/III Results of a Trial of Anti-Tumor Necrosis Factor Multivalent NANOBODY Compound Ozoralizumab in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Arthritis & Rheumatology*. 2022; 74(11), p. 1776.
 185. Ebina, K., Etani, Y., Nakanishi, Y., Nakata, K., Okada, S., Oyama, S., et al. A novel anti-TNF- α drug ozoralizumab rapidly distributes to inflamed joint tissues in a mouse model of collagen induced arthritis. *Scientific Reports*. 2022; 12(1), p. 1-11.
 186. Fleischmann, R., Edwards, C., Furst, D., Kopp, E., Macri, M., Solinger, A., et al. A Phase 2 Dose-Finding Study of PEGylated Recombinant Methionyl Human Soluble Tumor Necrosis Factor Type I in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Journal of Rheumatology*. 2005; 32(12), p. 2303-2310.
 187. Florian, P., Kohlmann, M., Nguyen, M., O'Connell, J., Vugler, A., Rao, S., et al. An orally available small molecule that targets soluble TNF to deliver anti-TNF biologic-like efficacy in rheumatoid arthritis. *Frontiers in Pharmacology*. 2022; 13(11), p. 4729.