



**Universidade do Algarve**  
Faculdade de Ciências e Tecnologia

# Novas abordagens terapêuticas para o tratamento da Artrite Reumatóide

**Inês Filipa Santos Batista**

Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sobre a orientação de: Professora Doutora Ana Isabel Azevedo Serralheiro

**2024**





**Universidade do Algarve**  
Faculdade de Ciências e Tecnologia

# Novas abordagens terapêuticas para o tratamento da Artrite Reumatóide

**Inês Filipa Santos Batista**

Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sobre a orientação de: Professora Doutora Ana Isabel Azevedo Serralheiro

**2024**



## DECLARAÇÃO DE AUTORIA DE TRABALHO

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados nos textos que consta da listagem de referências incluída.

---

(Inês Filipa Santos Batista)

**Copyright** © 2024 Inês Filipa Santos Batista

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar 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 objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor



## **AGRADECIMENTOS**

Esta dissertação representa o fim de um percurso longo, mas rápido ao mesmo tempo. Estes cinco anos foram muito importantes para mim e para o meu crescimento pessoal, e saí desta jornada uma pessoa diferente. E por isso, tenho de agradecer a todos os elementos que fizeram parte dela.

Quero agradecer, em primeiro lugar, à minha família por tudo o que fizeram por mim, sem vocês não teria sido possível embarcar neste desafio. À minha mãe, por nunca ter duvidado de mim e pelo apoio incondicional nos momentos mais difíceis, uma confidente e melhor amiga. Ao meu pai, por ter estado sempre presente nos momentos em que mais precisei. Ao meu irmão, o meu melhor amigo, que esteve sempre ao meu lado, apesar de longe e por quem tenho muito carinho. Às minhas duas avós e avô, sei que estão muito orgulhosos da minha conquista, obrigada por todo o carinho e são um exemplo a seguir.

Uma obrigada a todos os docentes que contribuíram para a minha formação, sei que irei ser uma boa profissional de saúde graças ao conhecimento que me transmitiram.

À professora Doutora Ana Isabel Serralheiro, que aceitou embarcar neste desafio e por me ter ajudado a concretizar este trabalho. Uma obrigada.

Aos meus amigos que estão comigo desde sempre, uma obrigada por me terem acompanhado, nos momentos mais difíceis e mais felizes, por terem ouvido as minhas queixas e pelas palavras de carinho.

Também quero agradecer aos amigos e colegas que fiz na universidade, especialmente à Beatriz, Cláudia e Marta, por fazerem parte deste quarteto fantástico em todas as horas. Nunca me irei esquecer das memórias que fizemos juntas, das horas de estudo, dos momentos de ansiedade, dos momentos felizes. Obrigada por terem estado ao meu lado durante estes cinco anos.

Aos meus afilhados e madrinhas, que apesar de terem entrado na minha vida a meio deste percurso, me ajudaram e tornaram os meus dias mais risonhos e mais felizes.

Ao Gonçalo, que embora recente na minha vida, me apoiou nos momentos mais difíceis e sempre acreditou nas minhas capacidades. Obrigada pela paciência, carinho e o companheirismo.

Não posso deixar de agradecer, também, à equipa farmacêutica do hospital do IPO do Porto, que me acolheu de braços abertos e que me transmitiu muitos conhecimentos em tão pouco tempo. Um agradecimento especial ao farmacêutico Dr João Fraga e às farmacêuticas Isabel Miranda e Joana Gomes.

À farmácia da luz, que me acolheu calorosamente e me deu ferramentas fundamentais para o exercício da minha carreira. Um especial agradecimento ao farmacêutico Dr Duarte Gomes e à farmacêutica Ana Manito, aprendi muito com ambos e são um exemplo de profissionais de excelência.

Uma grande obrigada a todos vós.

## **Resumo**

A Artrite Reumatóide (AR) é uma doença inflamatória, crónica e sistémica de natureza autoimune caracterizada por infiltração celular, hiperplasia sinovial e destruição da cartilagem articular progressiva, afetando principalmente as articulações das mãos, punhos e joelhos. Até à data, a sua fisiopatologia e etiologia permanecem desconhecidas, constituindo um obstáculo à sua prevenção e tratamento.

Durante as últimas décadas, a prevalência da AR tem vindo a aumentar, nomeadamente nos países mais desenvolvidos, sobretudo em mulheres com mais de 50 anos. Ainda não existe uma cura e por isso o tratamento desta patologia centra-se no aumento de qualidade de vida e redução da sintomatologia e no alcance da remissão. O aparecimento dos fármacos modificadores da doença revolucionou o tratamento da AR, no entanto, é necessário a utilização de anti-inflamatórios não-esteroides e corticosteroides como terapia adjuvante, de forma a diminuir o estado de inflamação e dor, presente no quadro clínico dos doentes.

No entanto, as atuais terapêuticas convencionais e biológicas modificadoras da doença por vezes falham ou produzem apenas respostas parciais e estão associadas ao desenvolvimento de efeitos secundários indesejáveis, sendo que o alcance da remissão não é uma realidade na maioria dos casos. Neste sentido, é necessário desenvolver novas estratégias para os doentes que são refratários às terapêuticas existentes.

Face ao exposto, esta dissertação irá consistir numa revisão bibliográfica da abordagem farmacológica da AR com enfoque nos avanços terapêuticos recentemente desenvolvidos na área. Destacando a utilização de células estaminais mesenquimais, alvos epigenéticos, inibidores do estimulador de colónias de macrófagos granulócitos, inibidores da via da quinase do 3-fosfatidilinositol, inibidores da tirosina quinase de Bruton e a utilização de sistemas de nanopartículas na administração de fármacos.

Adicionalmente, o farmacêutico tem um papel fundamental na gestão e acompanhamento da doença, devendo focar-se na educação do doente e na resposta às suas necessidades.

**Palavras-chave:** Artrite reumatóide, fármacos modificadores da doença, novas estratégias terapêuticas, tratamento farmacológico.



## **Abstract**

Rheumatoid arthritis (RA) is an inflammatory, chronic, and systemic autoimmune disease characterized by cellular infiltration, synovial hyperplasia and progressive articular cartilage destruction, mainly affecting the joints of the hands, wrists and knees. To date, its pathophysiology and etiology remain unknown, constituting an obstacle to its prevention and treatment.

Over the last few decades, the prevalence of RA has been increasing, particularly in more developed countries, especially in women over the age of 50. As of yet, there is no cure and so the treatment of this condition focuses on increasing quality of life, reducing symptoms and achieving remission. The emerge of disease-modifying drugs has revolutionized the treatment of RA, however, it is necessary to use non-steroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids as adjuvant therapy to reduce the state of inflammation and pain present in the clinical condition of patients.

However, current conventional and biological disease-modifying therapies sometimes fail or produce only partial responses and are associated with the development of undesirable side effects, thus achieving remission is not a reality in most cases. It is therefore necessary to develop new strategies for patients who are refractory to existing therapies.

In view of the above, this dissertation will consist of a bibliographical review of the pharmacological approach to RA with a focus on the therapeutic advances recently developed in the area. In particular, the use of mesenchymal stem cells, epigenetic targets, granulocyte macrophage colony-stimulating factor inhibitors, 3-phosphatidylinositol kinase pathway inhibitors, Bruton tyrosine kinase inhibitors and the use of nanoparticle systems for drug delivery.

In addition, pharmacists play a fundamental role in the management and monitoring of the disease and should focus on educating patients and responding to their needs.

**Keywords:** Rheumatoid arthritis, disease-modifying drugs, new therapeutic strategies, pharmacological treatment.

## Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo.....	III
Abstract.....	V
Índice de Abreviaturas e Siglas.....	IX
Índice de Figuras.....	XII
Índice de Quadros.....	XIII
Índice de Tabelas.....	XIV
<b>1. Secção Introdutória.....</b>	<b>1</b>
1.1. Introdução.....	1
1.2. Metodologia.....	3
<b>2. Contexto Histórico .....</b>	<b>3</b>
<b>3. Epidemiologia .....</b>	<b>4</b>
3.1. Epidemiologia em Portugal.....	5
<b>4. Artrite Reumatóide.....</b>	<b>8</b>
4.1. Etiologia e Fisiopatologia.....	11
4.1.1. Osteoimunologia.....	15
4.2. Fatores risco.....	20
4.2.1. Fatores genéticos.....	20
4.2.2. Fatores epigenéticos.....	22
4.2.3. Fatores hormonais, reprodutivos e neuroendócrinos.....	23
4.2.4. Fatores associados à comorbilidade.....	24
4.2.5. Obesidade.....	25
4.2.6. Vitamina D.....	26
4.2.7. Tabagismo.....	27
4.2.8. Periodontite.....	30
4.2.9. Microbiota Intestinal.....	32
4.2.10. Álcool.....	33
4.2.11. Sílica.....	33
4.2.12. Fatores Socioeconómicos.....	34
4.2.13. Dieta.....	35
<b>5. Critérios de Classificação.....</b>	<b>37</b>
5.1. Critérios de classificação da Associação Americana de Reumatologia de 1987.....	37

5.2. Critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia/Liga Europeia das Associações de Reumatologia de 2010.....	38
<b>6. Manifestações Clínicas.....</b>	<b>40</b>
6.1. Sinais e Sintomas .....	40
6.2. Manifestação extra-articulares .....	40
<b>7. Tratamento .....</b>	<b>42</b>
7.1. Tratamento não farmacológico.....	43
7.1.1. Educação para o doente.....	43
7.1.2. Exercício físico.....	44
7.1.3. Dieta e suplementação.....	44
7.1.4. Probióticos.....	45
7.1.5. Hidroterapia.....	46
7.2 Tratamento farmacológico.....	46
7.2.1. Anti-inflamatórios não-esteroides.....	46
7.2.2. Corticosteroides.....	48
7.2.3. Analgésicos.....	50
7.2.4. Fármacos antirreumáticos modificadores da doença sintéticos convencionais.....	51
7.2.4.1. Metotrexato.....	53
7.2.4.2. Leflunomida.....	54
7.2.4.3. Hidroxicloroquina.....	54
7.2.4.4. Sulfassalazina.....	55
7.2.5. Fármacos antirreumáticos modificadores da doença biológicos.....	55
7.2.5.1. Inibidores do fator de necrose tumoral.....	57
7.2.5.2. Inibidores da interleucina 6.....	59
7.2.5.3. Inibidores da interleucina 1.....	59
7.2.5.4. Modulador de Coestimulação.....	60
7.2.5.5. Modulador de Células B.....	60
7.2.5.6. Biossimilares.....	61
7.2.6 Fármacos antirreumáticos modificadores da doença sintéticos direcionados.....	61
<b>8. Algoritmo Terapêutico.....</b>	<b>64</b>
<b>9. Novas Abordagens Terapêuticas.....</b>	<b>69</b>
9.1. Células estaminais mesenquimais.....	70
9.2. Alvos epigenéticos.....	72

9.2.1. Metilação do DNA.....	73
9.2.2. Modificação das histonas.....	74
9.2.3. MicroRNA.....	76
9.3. Inibidores do Fator estimulador de colónias de macrófagos granulócitos.....	78
9.4. Inibidores do fosfatidilinositol-3-quinase.....	81
9.5. Inibidores da tirosina quinase de Bruton.....	83
9.6. Novos sistemas administração de fármacos.....	87
9.6.1. Nanopartículas poliméricas.....	88
9.6.1.1 Micelas.....	89
9.6.2. Nanopartículas à base de lípidos.....	90
9.6.2.1. Lipossomas.....	90
9.6.2.2. Nanopartículas lipídicas sólidas.....	92
9.6.2.3. Transportadores lipídicos nanoestruturados.....	93
9.6.3. Nanopartículas de ouro.....	94
<b>10. Papel do Farmacêutico na Gestão da AR.....</b>	<b>96</b>
10.1. Papel do Farmacêutico Hospitalar.....	96
10.2. Papel do Farmacêutico Comunitário.....	97
<b>11. Conclusão.....</b>	<b>99</b>
<b>12. Referências bibliográficas.....</b>	<b>101</b>

## Índice de Abreviaturas e Siglas

**ACPAs**-Anticorpos anti-proteínas citrulinadas/peptídeos

**ACR**-Colégio Americano de Reumatologia (do inglês, *American College of Rheumatology*)

**AICAR**-Ribonucleótido 5-aminoimidazole-4-carboxamida

**AINEs**-Anti-inflamatórios não esteroides

**AKT**-Proteína quinase B, (do inglês, *protein kinase B*)

**APCs**-Células apresentadoras de antígenos (do inglês, *antigen-presenting cells*)

**AR**-Artrite Reumatóide

**AuNPs**-Nanopartículas de Ouro

**BCR**-Recetor de antígeno dos linfócitos B (do inglês, *B-cell receptor*)

**bDMARDs**-Fármacos antirreumáticos modificadores da doença biológicos

**BTK**-Tirosina quinase de Bruton (do inglês, *Bruton's Tyrosine Kinase*)

**CDAI**-Índice de Atividade da Doença de Crohn (do inglês, *Crohn's Disease Activity Index*)

**CD40L**-*CD40 ligand*

**COX**-Ciclooxigenase

**CTLA4**-Domínio extracelular do antígeno 4 associado aos linfócitos T citotóxicos, (do inglês, *Cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4*)

**CpG**-Resíduos de guanina (do inglês, *Guanine residues*)

**DMARD**-Fármacos antirreumáticos modificadores da doença (do inglês, *disease modifying antirheumatic drugs*)

**DNA**-Ácido desoxirribonucleico (do inglês, *Deoxyribonucleic acid*)

**DAS28**-Pontuação de Atividade da Doença em 28 articulações

**DNMT**-DNA metiltransferases

**FR**-Fator reumatóide

**FDA**-*Food and Drug Administration*

**EpiReumaPt**-Estudo epidemiológico de doenças reumáticas em Portugal

**EULAR**-Aliança Europeia de Associações de Reumatologia (do inglês, *European Alliance of Associations for Rheumatology*)

**GBD**-*Global Burden of Disease*

**GC**-Glucocorticoides/Corticosteroides

**GM-CSF**-Fator estimulador de colónias de macrófagos (do inglês, *Granulocyte macrophage colony-stimulating factor*)

**GWAS**-*Genome wide association studies*

**HCQ**-Hidroxicloroquina

**HDAC**-Histonas desacetilases (do inglês, *Histone deacetylases*)

**HLA-DRB1**-*HLA class II histocompatibility antigen, DRB1 beta chain*

**FLS**-Sinoviócitos semelhantes a fibroblastos (do inglês, *Fibroblast-like synoviocytes*)

**IgG**-Imunoglobulinas G

**INFARMED**-Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I. P.

**IFN- $\gamma$** -Interferão Gama

**IL**-Interleucina

**IL-6R**-Recetor da interleucina 6

**IV**-Intravenosa

**JAK**-Janus Quinases (do inglês, *Janus Associated Kinases*)

**JAKi**-Inibidor da Janus Quinase

**LEF**-Leflunomida

**MHC**-Complexo Principal de Histocompatibilidade (do inglês, *Major histocompatibility complex*)

**MiRNA**-MicroRNA

**MMPs**-Metaloproteinases da matriz

**MTOR**-Proteína alvo da rapamicina dos mamíferos (do inglês, *mammalian target of rapamycin*)

**MSC**-Células estaminais mesenquimais (do inglês, *mesenchymal stem cell*)

**MTX**-Metotrexato

**NLCs**-Transportadores lipídicos nanoestruturados (do inglês, *Nanostructured lipid carriers*)

**PAD**-Peptidilarginina desaminase

**PAD4**-Peptidilarginina desaminase 4

**PCR**-Proteína C-reativa

**PG**-Prostaglandina

**PI3K**-Quinase do 3-fosfatidilinositol (do inglês, *phosphoinositide 3-kinase*)

**PPAD**-Peptidilarginina desaminase de *Porphyromonas gingivalis*

**PTM's**-Post-translational modifications

**PTPN22**-Tirosina fosfatase não-recetora 22 (do inglês, *Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22*)

**PUFA**-Ácidos gordos polinsaturados (do inglês, *Polyunsaturated fat*)

**RNA**-Ácido ribonucleico (do inglês, *Ribonucleic acid*)

**RANK**-Ativador do recetor do fator nuclear- $\kappa$ B, (do inglês, *receptor activator of*

*nuclear factor kappa B)*

**RANKL**-Recetor do ligante do fator nuclear kappa-B, (do inglês, *receptor activator of nuclear factor kappa B ligand*)

**RAPID3**-Avaliação de rotina dos dados do índice do doente 3, (do inglês, *Routine Assessment of Patient Index DATA*)

**SC**-Subcutânea

**SDAI**-Índice simplificado de atividade da doença (do inglês, *Simple Disease Activity Index*)

**SE**-Epítomos Partilhados (do inglês, *Shared etiopes*)

**SLNs**-Nanopartículas lipídicas sólidas (do inglês, *Solid Lipid Nanoparticules*)

**SNP**-Polimorfismo de nucleotídeo único (do inglês, *Single-nucleotide Polymorphism*)

**SSZ**-Sulfassalazina

**STAT4**-Transdutor de sinal e ativador da transcrição 4 (do inglês, *Signal transducer and activation of transcription 4*)

**TGF- $\beta$** -Fator de transformação do crescimento beta (do inglês, *Transforming Growth Factor beta*)

**Th**-Linfócito T *helper*

**TNF- $\alpha$** - Fator de necrose tumoral alfa, (do inglês, *Tumor necrosis factor alpha*)

**TNFi** -Inibidores do fator de necrose tumoral alfa

**TRAF1/C5**-Fator de necrose tumoral associado ao recetor 1/componente complementar 5

**tsDMARD**-Fármacos antirreumáticos modificadores da doença sintéticosdirecionados

**T2T**-*Treat to target*

**OPG**-Osteoprotegerina

**OSCAR**-*Osteoclast-associated recetor*

**VS**-Velocidade de sedimentação

## Índice de Figuras

<b>Figura 3.1</b> -Número global de casos prevalentes e taxa de prevalência de Artrite Reumatóide por 100 000 habitantes, por idade e sexo, 2017.....	4
<b>Figura 4.1</b> -Progressão e desenvolvimento da Artrite Reumatóide. Comparação entre a articulação saudável e o início da infiltração celular.....	9
<b>Figura 4.2</b> -Representação esquemática de uma cartilagem normal versus uma cartilagem afetada.....	10
<b>Figura 4.3</b> -Representação das principais mudanças pós-transdução em proteínas envolvidas na patogénese da Artrite Reumatóide e os mecanismos associados.....	12
<b>Figura 4.4</b> -Ativação da resposta imunitária adaptativa pelas células apresentadoras de antígenos.....	13
<b>Figura 4.5</b> -Mecanismo fisiopatológico da Artrite Reumatóide.....	15
<b>Figura 4.6</b> -Os fatores-chave que regulam a diferenciação dos osteoclastos na Artrite Reumatóide.....	17
<b>Figura 4.7</b> -Potenciais ligações entre a Artrite Reumatóide e a Periodontite.....	31
<b>Figura 7.1</b> -Mecanismo de ação dos AINEs.....	47
<b>Figura 7.2</b> -Estrutura molecular dos cinco inibidores do fator de necrose tumoral alfa aprovados no tratamento da AR.....	58
<b>Figura 7.3</b> -Sinalização de citocinas através de JAKs e inibidores de JAK.....	62
<b>Figura 8.1</b> -Representação do algoritmo terapêutico recomendado pela EULAR de 2019.....	67
<b>Figura 9.1</b> -Representação dos possíveis efeitos imunomoduladores das células estaminais mesenquimais.....	70
<b>Figura 9.2</b> -Representação esquemática da metilação do DNA.....	73
<b>Figura 9.3</b> -Representação do processo de acetilação e desacetilação das histonas.....	75
<b>Figura 9.4</b> -Estrutura do recetor do fator estimulador de colónias de macrófagos.....	79
<b>Figura 9.5</b> -Representação da via de sinalização quinase do 3-fosfatidilinositol/proteína quinase B.....	82
<b>Figura 9.6</b> -Mecanismo de ação dos inibidores da tirosina quinase de Bruton.....	84
<b>Figura 9.7</b> - Exemplos de diferentes sistemas de nanopartículas.....	88

## Índice de Quadros

<b>Quadro 4.1-</b> Principais citocinas que participam na regulação da diferenciação de osteoclastos.....	18
<b>Quadro 4.2-</b> Associação das adipocinas com a obesidade, a inflamação e o seu potencial papel na AR.....	26
<b>Quadro 4.3-</b> Os efeitos mistos do tabagismo e da exposição à nicotina sobre a função do sistema imunitário. ....	29
<b>Quadro 4.4-</b> Influência dos fatores dietéticos na atividade da Artrite Reumatóide.....	35
<b>Quadro 5.1-</b> Os critérios revistos de 1987 para a classificação da AR da Associação Americana de Reumatologia .....	38
<b>Quadro 5.2-</b> Os critérios de classificação do ACR/EULAR de 2010 para a Artrite Reumatóide.....	39
<b>Quadro 6.1-</b> Exemplos de manifestações extra-articulares na AR.....	41
<b>Quadro 7.1-</b> Características dos fármacos da classe csDMARDs.....	52
<b>Quadro 7.2-</b> Principais Fármacos antirreumáticos modificadores da doença biológicos usados na AR.....	57
<b>Quadro 8.1-</b> Ferramentas e critérios de remissão ACR/EULAR.....	65

## **Índice de Tabelas**

**Tabela 3.1-** Número de doentes registados por diagnóstico até 31 de dezembro de 2022.....7

## 1. Secção Introdutória

### 1.1 Introdução

A Artrite Reumatóide (AR) é uma doença inflamatória, crónica e sistémica de natureza autoimune, caracterizada por lesões progressivas e irreversíveis das articulações. Na AR, as articulações encontram-se revestidas por um líquido sinovial, o que leva a uma perda do espaço articular, comprometendo assim, a função das mesmas. A manifestação primária da AR é a artrite inflamatória, que é representada pela presença de dor e inchaço simétricos e poliarticulares, em que estão envolvidas, normalmente, as pequenas articulações da mão e do pé (1-2).

Esta patologia afeta cerca de 0,5 a 1% da população mundial, evidenciando uma prevalência superior nos países desenvolvidos (3). O sexo feminino é o mais afetado apresentando uma proporção de 3 mulheres para cada homem com a doença. Contrariamente às mulheres com menos de 50 anos, em que a incidência é quatro vezes maior, nos homens com menos de 45 anos, a AR é uma ocorrência rara(4). À medida que a idade avança, a incidência da AR aumenta tanto em homens quanto em mulheres, atingindo o pico máximo por volta da menopausa no caso das mulheres. Embora a doença possa manifestar-se em ambos os sexos e em qualquer faixa etária, é predominantemente associada às mulheres de meia-idade (4).

Estes doentes apresentam diversas manifestações extra-articulares, o que resulta num aumento da morbidade e da mortalidade, agravado por um impacto dramático na qualidade de vida. Cerca de 80% dos doentes afetados ficam incapacitados após 20 anos, com uma redução da esperança de vida de 3 a 18 anos (5-6).

O mecanismo fisiopatológico e a sua etiologia ainda não são bem compreendidos, o que constitui um grande desafio na abordagem desta patologia. Apesar das causas específicas ainda não serem conhecidas, existem certos fatores que contribuem para o desenvolvimento da doença. A AR é considerada uma doença multifatorial, resultante da interação de fatores genéticos e ambientais, que contribuem para a sua ocorrência e expressão. Os principais fatores de risco para a doença incluem a suscetibilidade genética, sexo e idade, tabagismo, agentes infecciosos e fatores hormonais, dietéticos e socioeconómicos (7-8).

Sendo uma doença autoimune, existe uma quebra de tolerância imunológica do próprio organismo, provocando o aumento dos níveis e da afinidade dos autoanticorpos, remodelação epigenética, e o organismo deixa de reconhecer e controlar a resposta dos autoantígenos *self*. Estes fenómenos contribuem para a produção anormal de anticorpos, como o fator reumatóide (FR) e o anticorpo anti-péptido citrulinado cíclico, e na deposição de complexos imunes no

tecido sinovial, dando origem a uma sinovite persistente e à destruição articular. Trata-se de uma doença complexa, uma vez que a presença dos anticorpos anti-proteínas citrulinadas (ACPAs), não está diretamente relacionada com o desenvolvimento da patologia visto que, numa fase anterior à presença de sinovite, pessoas que são ACPA positivas podem tornar-se ACPA negativas ou serem ACPA positivas, e nunca desenvolver a doença (2,9).

A AR é uma doença heterogénea. Devido às diferentes características clínicas apresentadas, o que dificulta não só o diagnóstico, mas também o tratamento. Por isso, o objetivo primário aquando do tratamento é reduzir a inflamação e a dor nas articulações, maximizar a função, prevenir a destruição e a deformidade articular. Contudo, a falta de compreensão dos mecanismos moleculares que regem o comportamento dos anticorpos, constitui um desafio para a descoberta de um tratamento que seja eficaz e atue nos diversos alvos (10-12).

Como tal, o objetivo da terapêutica é obter a remissão e reduzir a incidência dos efeitos secundários e para isso é necessário a recorrer a fármacos modificadores da doença e fármacos com ação anti-inflamatória. Os agentes farmacológicos que ajudam a manter a função articular podem ser classificados como fármacos antirreumáticos modificadores da doença (DMARD) sintéticos convencionais (cDMARDs), DMARD biológicos (bDMARDs) e DMARD sintéticos direcionados (tsDMARDs), que estão inseridos numa nova classe de DMARD não biológicos pelo Colégio Americano de Reumatologia (ACR). O aparecimento de sintomas, principalmente a dor em doentes com AR, requer a utilização de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) e glucocorticoides (GC) como terapêutica adjuvante na redução da inflamação (10).

Apesar da melhoria constante das estratégias-alvo e dos novos fármacos disponíveis que podem ser utilizados no tratamento da AR, alguns doentes não respondem ou são intolerantes aos mesmos, seja por fatores individuais ou pelo aparecimento de efeitos adversos. Por isso, é preciso encontrar novos fármacos que atuem em diversos alvos, como também, a monitorização da eficácia e segurança das terapêuticas existentes. Estas novas abordagens podem passar pela terapia celular, epigenética e outros alvos celulares (recetores e citocinas inflamatórias), como também a utilização de sistemas de nanopartículas como veículos de fármacos (13-14).

## 1.2 Metodologia

Esta dissertação consiste numa revisão bibliográfica da abordagem terapêutica da AR com enfoque nos avanços terapêuticos recentemente desenvolvidos. Para tal, foi realizada uma pesquisa bibliográfica recorrendo a ferramentas e base de dados como a B-on, PubMed, UptoDate, Google Scholar, Repositório Científico de Acesso Aberto de Portugal, Web of Science. A pesquisa foi efetuada tendo por base os termos, “*Rheumatoid arthritis*”, “*Autoimmune*”, “*Inflammatory diseases*”, “*Risk factors*”, “*Drug treatment*”, “*Guidelines*”, “*New targets*” e “*Pharmacist*”, tendo como critério de seleção as publicações mais recentes.

## 2. Contexto Histórico

Para ser possível compreender melhor esta patologia e as perceções da sua patogénese e tratamento, é necessário conhecer o passado.

A origem da palavra “artrite” sucede de um termo grego que significa “doença das articulações”, e o termo reumatismo provém de uma palavra grega que significa “corrente que flui”, remetendo o fluxo das articulações afetadas. Acredita-se que esta patologia remonta aos tempos antigos, através da análise de esqueletos antigos de Pompeia e do Egipto (15).

A primeira descrição da AR reconhecida pela comunidade em científica foi realizada em 1800, por um médico francês de seu nome *Augustin Jacob Landré-Beauvais* (16). *Landré-Beauvais* reparou que os sintomas descritos pelos doentes eram diferentes de outras doenças já descritas na literatura daquela altura, como a Osteoartrite e a Gota. Contrariamente ao que já era conhecido, observou que estes tipos de dores articulares eram mais prevalentes em pessoas pobres e em mulheres. Denominou, então, esta condição como uma tipologia de gota, designadamente, “gota asténica primária”. Embora esta classificação como uma forma de gota fosse incorreta, impulsionou a realização de estudos adicionais (16-17).

Nos meados do século XIX, *Alfred Garrod*, um médico inglês fez a distinção entre a gota e outras formas de artrite. Em 1859, *Alfred Garrod* escreveu a obra “*A Treatise on Gout and Rheumatic Gout*”, onde descreve que os doentes diagnosticados com gota tinham um excesso de ácido úrico no sangue, o que não era observado em doentes com diferentes tipos de artrite, diferenciado assim as duas patologias. Este livro consistiu então no primeiro registo a cognominar a doença como AR, termo que ainda hoje permanece (18).

Em 1934 foi fundado o Colégio Americano de Reumatologia (ACR), uma organização sem fins lucrativos, constituída por profissionais especialistas em reumatologia que visa apoiar os profissionais no seu dia a dia, de modo a fornecer informação com base em estudos científicos realizados pela instituição (19).

Mais tarde, em 1947, foi criada a Liga Europeia contra o Reumatismo, atualmente, designada como Aliança Europeia de Associações de Reumatologia (EULAR), foi criada. Esta organização representa os doentes, os profissionais de saúde e as sociedades científicas de reumatologia europeias (20).

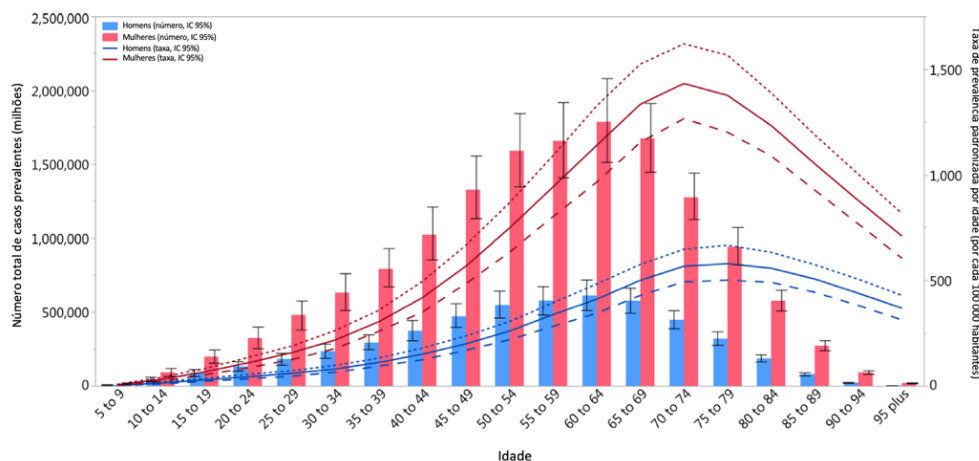
Posteriormente, em 1982 surgiu a Liga Portuguesa Contra a Doença Reumática foi criada com a missão de promover educação aos doentes, mas também à população em geral, em relação à etiologia, tratamento e prevenção como também ao impacto destas condições patológicas na vida dos doentes (21).

### 3. Epidemiologia

Para se compreender o impacto de uma patologia numa sociedade, é muito importante saber qual é a sua prevalência, de modo a estabelecer medidas de forma a encontrar a melhor abordagem terapêutica e gestão da própria doença assim como os recursos disponíveis. É importante ressaltar que a AR é três vezes mais prevalente nas mulheres do que nos homens, especialmente após a menopausa. Trata-se de uma doença que pode aparecer em diversas idades, até na adolescência (7,22).

Estima-se que a prevalência da AR, a nível global, está compreendida entre 0.5-1% nos países mais industrializados. Segundo, o relatório *da Global Burden of Disease* (GBD), em 2019, aproximadamente 18 milhões de pessoas viviam com AR e cerca de 70% eram mulheres, de entre as quais, 55% com mais de 55 anos (20,23-25).

Apesar da AR ser considerada como uma doença “comum” não existem estudos exaustivos a nível global desde 2010 e por isso, em 2017, realizou-se um estudo, tendo em conta os dados recolhidos de 1990 até 2017.<sup>(26)</sup> Este estudo concluiu que a taxa global de anos de vida ajustados por incapacidade padronizada por idade diminuiu de 1990 a 2012, mas depois aumentou e atingiu níveis mais elevados do que o esperado nos 5 anos seguintes até 2017 (26). O Reino Unido apresentou as taxas de prevalência e incidência padronizadas por idade mais elevadas em 2017 (26). Globalmente, a taxa de prevalência padronizada por idade foi mais elevada nas mulheres e aumentou com a idade, atingindo um pico nos grupos etários de 70-74 e 75-79 anos de idade entre mulheres e homens, respetivamente, em 2017. Além disso, o número de casos prevalentes aumentou com a idade e atingiu o pico no grupo etário dos 60-64 anos, tanto para os homens como para as mulheres, como representado na Figura 3.1 (26).



**Figura 3.1** – Número global de casos prevalentes e taxa de prevalência de Artrite Reumatóide por 100 000 habitantes, por idade e sexo, 2017 (Adaptado de (26)).

Com base nos dados da GBD de 2017, a prevalência da AR é mais elevada nos países desenvolvidos, seguida da Índia e dos países da América do Sul. Esta disparidade poderá estar relacionada com os fatores genéticos, ambientais, uma maior sensibilização (com mais profissionais de saúde disponíveis para diagnosticar a AR), situação socioeconómica, notificação da doença, e a esperança média de vida (27).

Este estudo veio demonstrar que embora o aumento da prevalência da AR por idade esteja a aumentar, a mortalidade e as comorbilidades associadas aparentam estar a diminuir.<sup>(12)</sup> No entanto, a AR representa um desafio na saúde pública a nível mundial, por isso, medidas como a identificação, diagnóstico precoce e o acesso às terapêuticas disponíveis são essenciais para a qualidade de vida dos doentes e sucesso terapêutico (27).

### 3.1 Epidemiologia em Portugal

Em Portugal, não há registos de número doentes portadores de AR anteriormente a 2008.<sup>(28)</sup> Devido à escassez de dados sobre o número de doentes portadores de vários tipos de doenças reumáticas, em 2006 a Sociedade Portuguesa de Reumatologia criou uma plataforma, Reuma (Registo Nacional de Doentes Reumáticos), onde até à data 04 de outubro de 2023 está registados 34413 doentes com doenças reumáticas (28).

Segundo a Associação Nacional de Doentes de Artrite Reumatóide, estima-se que a AR afete aproximadamente 0,8 a 1,5% da população portuguesa (29). Calcula-se que em Portugal, existam cerca de 40 000 doentes diagnosticados com AR (29).

Num estudo baseado em informação autodeclarada e publicado por Costa *et al.*, com objetivo de determinar a prevalência de várias doenças reumáticas, incluindo a AR, que contou com a participação de 1238 indivíduos, com idade superior a 18 anos e residentes na área

metropolitana do Porto, a prevalência de AR nas mulheres foi de 2,5% (intervalo de confiança de 95%: 1,5-3,9) e de 0% (intervalo de confiança de 95%: 0-1,1) em homens (30).

Mais tarde, foi publicado um estudo por Abreu *et al.*, que contou com a participação de médicos de várias especialidades de diferentes hospitais portugueses. Este estudo contou com a participação de 158 médicos que acompanhavam cerca de 6.000 a 13.000 doentes com diversas doenças autoimunes, sendo que a patologia mais prevalente foi a AR (1.191-2.305 doentes).<sup>(31)</sup> Apesar do estudo apresentar uma baixa adesão, é possível extrapolar que a AR não é uma doença rara e constitui um problema de saúde pública na sociedade portuguesa (31).

Já em 2016, através de um estudo realizado pelo Epireuma.pt, em que foram selecionados 10 661 participantes aleatoriamente, foi possível determinar a prevalência da AR utilizando os critérios da ACR/EULAR de 2010, obtendo um resultado de 0,7% (32).

Desde a implementação da plataforma de registo nacional de doentes reumáticos (Reuma.pt), todos os anos são lançados relatórios com informação clínica relativa a doentes reumáticos residentes em Portugal continental, Madeira e Açores. O registo é realizado por região (Portugal {**Norte, Centro, Sul e Ilhas**} e **Brasil**). Em 2022, estavam disponíveis 15 protocolos relativos a algumas doenças reumáticas e músculo-esqueléticas, incluindo a AR (Tabela 3.1). No relatório de 2022, estavam registados 10069 doentes com AR, o que revela um aumento de 0,93%, em comparação com 2021 (9336 doentes). O maior registo ocorreu na Região Sul, seguida pela Região do Centro; não havendo registos no Brasil (33-34).

Por isso, podemos dizer que o número de doentes com AR tem vindo a aumentar significativamente de ano para ano. Segundo o relatório de monitorização do consumo de medicamentos em ambiente hospitalar referentes ao ano de 2022 publicado pela Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I. P (INFARMED), a utilização de medicação para doenças autoimunes incluindo a AR, psoríase e doença inflamatória intestinal teve um aumento de 23,8% face ao ano anterior, que se reflete num aumento da despesa de 12,3%, equivalente a um gasto de 167,1 milhões de euros nesse ano (35).

Geralmente, as doenças reumáticas são acompanhadas de uma baixa mortalidade, e por isso a sua relevância acaba por ser ignorada. Mas estas doenças possuem uma morbilidade muito elevada, sendo altamente debilitantes na maioria dos doentes. Por isso, é necessário investir nos sistemas e subsistemas de saúde, como também na investigação e formação académica e na educação para saúde da população, para a realização de um diagnóstico precoce e definição de terapêuticas mais personalizadas, de forma a proporcionar o melhor tratamento a estes doentes (24).

Novas abordagens terapêuticas para o tratamento da Artrite Reumatóide

**Tabela 3.1-** Número de doentes registados por diagnóstico até 31 de dezembro de 2022 (Adaptado de (34)).

DOENÇAS	TOTAL
<b>Artrite reumatóide</b>	<b>10069</b>
Espondilartrite	5592
Artrite psoriática	3521
Artrite idiopática juvenil	2122
Lúpus eritematoso sistémico	2333
Artrites iniciais	291
Síndromes autoinflamatórias	355
Vasculites	1810
Osteoartrose	164
Esclerodermia	1434
Síndrome Sjögren	1074
Miosites	342
Osteoporose/fraturas de fragilidade	764
Outros diagnósticos juvenis	241
Outros diagnósticos adultos	910
<b>TOTAL</b>	<b>31022</b>

#### 4. Artrite Reumatóide

A AR é uma doença inflamatória, crônica e sistêmica de natureza autoimune caracterizada por infiltração celular, hiperplasia sinovial e destruição da cartilagem articular progressiva, afetando principalmente as articulações das mãos, punhos e joelhos (36).

A autoimunidade na AR advém da presença de autoanticorpos contra a imunoglobulina G (IgG), designadamente o FR e os ACPAs. Para além da formação destes anticorpos, verifica-se anomalias na resposta imunitária a nível celular e humoral, pela modificação de proteínas através de processos de citrulinização, carbamilação e a acetilação (37-38).

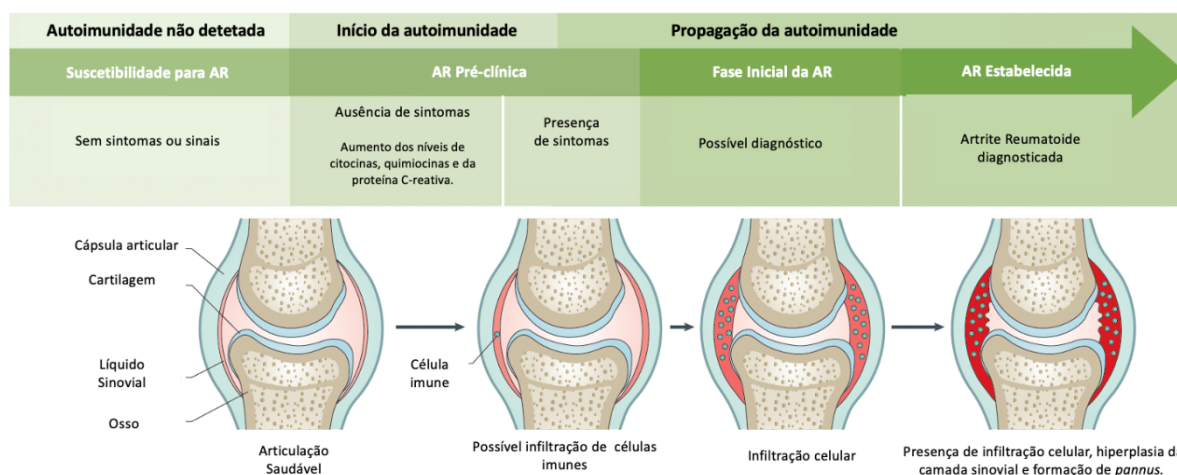
O diagnóstico da AR segue os critérios do ACR e da EULAR de 2010. Este diagnóstico pode ser dividido em 2 subtipos, AR “soropositiva” e AR “soronegativa”. A designação seropositividade é definida como a presença dos autoanticorpos do FR e dos ACPAs, em concentrações séricas elevadas. Logo, um doente com AR que seja “soronegativo”, não apresenta concentrações destes dois fatores no seu sangue (39).

As manifestações clínicas são variadas, mas após a AR estar estabelecida, os sintomas predominantes são dor, rigidez e a deformação das articulações periféricas. Estes sintomas são suscetíveis de aparecer nas articulações dos dedos das mãos e dos pés (por exemplo, as articulações interfalângica proximal, metacarpofalângica e metatarsofalângicas), joelhos, pés, mãos, cotovelos e coluna cervical, entre outras áreas. No entanto, o envolvimento das articulações interfalângicas distais é muito raro no início da doença (40-41).

A dor pode ser classificada como ligeira a debilitante para uma inflamação sistêmica com fatores de morbidade e mortalidade associadas. Em mais de 70% dos doentes, verifica-se a destruição das articulações provocada pela hiperplasia sinovial nos primeiros 2 anos após o desenvolvimento da doença (40).

A etiologia da AR ainda hoje é desconhecida, mas existem certos fatores que podem desencadear a formação das proteínas modificadas, contribuindo assim para o desenvolvimento da doença. Um dos fatores mais importantes é de natureza genética, em que o Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) está envolvido, nomeadamente os alelos de classe II, HLA-DRB1 (do inglês: *HLA class II histocompatibility antigen, DRB1 beta chain*) com epítotos partilhados (SE) que codificam uma sequência comum de aminoácidos. No entanto, os alelos SE apenas estão relacionados com o desenvolvimento da AR soropositiva. Para além da componente genética, a exposição ao tabaco também desempenha um papel muito importante no desenvolvimento desta patologia (42-44).

A evolução da AR pode estar compreendida em 3 fases: a fase pré-clínica, a fase clínica e a fase de doença já diagnosticada (Figura 4.1). A identificação da fase pré-clínica da AR pode ser definida como autoimunidade local ou sistêmica, através da identificação e medição de certos biomarcadores, anterior ao desenvolvimento da hiperplasia sinovial aparente em que o diagnóstico é estabelecido, sugerindo então, a presença de certos fatores de risco. Nesta fase, não há a presença de sintomas e pode durar até vários anos até o diagnóstico ser estabelecido, havendo casos de portadores destes biomarcadores que nunca chegam a desenvolver AR.(39,45).

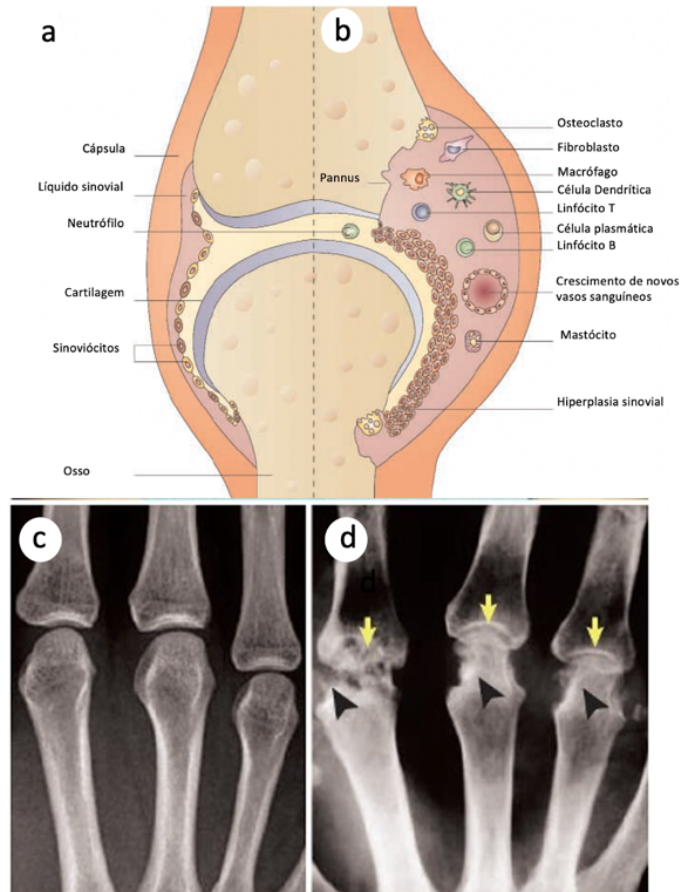


**Figura 4.1** – Progressão e desenvolvimento da Artrite Reumatóide. Comparação entre a articulação saudável e o início da infiltração celular (Adaptado de (37)). O pannus representa a formação anormal de uma camada de tecido nas articulações afetadas pela AR. Esta camada é constituída por células inflamatórias, fibroblastos, osteoclastos, linfócitos B, T que promovem a degradação óssea e a perda de função da articulação.

A presença de ACPAs, de outros anticorpos (como o FR) e de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias pode ser detetada até 10 anos antes do início da doença, o que sugere a ativação imunitária durante o período pré-clínico. Este fenómeno (a presença de ACPAs) por si só, não é suficiente para iniciar a formação de sinovite; é necessária uma quebra imunológica que leva à formação de um complexo imune. Assim que o complexo imune é formado, a permeabilidade vascular aumenta e ocorre um influxo de células inflamatórias para o líquido sinovial (46).

Na fase clínica, os sintomas já estão presentes e é possível identificar a inflamação sinovial à volta da articulação. O líquido sinovial é formado por células mononucleadas, tais como os linfócitos T CD4<sup>+</sup> e macrófagos, células dendríticas, mastócitos. Durante a infiltração celular, forma-se um tecido linfoide, que vai dar origem à camada hiperplásica característica da AR. Assim que esta camada é formada, diversos mecanismos celulares vão desencadear a formação

de citocinas inflamatórias, osteoclastos, marcando o início do processo inflamatório, da destruição articular e erosão óssea (Figura 4.2) (37).



**Figura 4.2** – Representação esquemática de uma cartilagem normal versus uma cartilagem afetada (Adaptado de (37,47)). **A.**| Composição da articulação sinovial saudável. **B.**| Hiperplasia da articulação e os seus constituintes. **C.**| Radiografia da segunda, terceira e quarta articulações metacarpofalângicas numa mão normal. **D.**| Radiografia da segunda, terceira e quarta articulações metacarpofalângicas numa mão num estado avançado da Artrite Reumatóide. Em que é possível observar a erosão do osso (setas pretas) e o estreitamento do espaço articular, que corresponde à perda de cartilagem (setas amarelas).

#### 4.1 Etiologia e Fisiopatologia

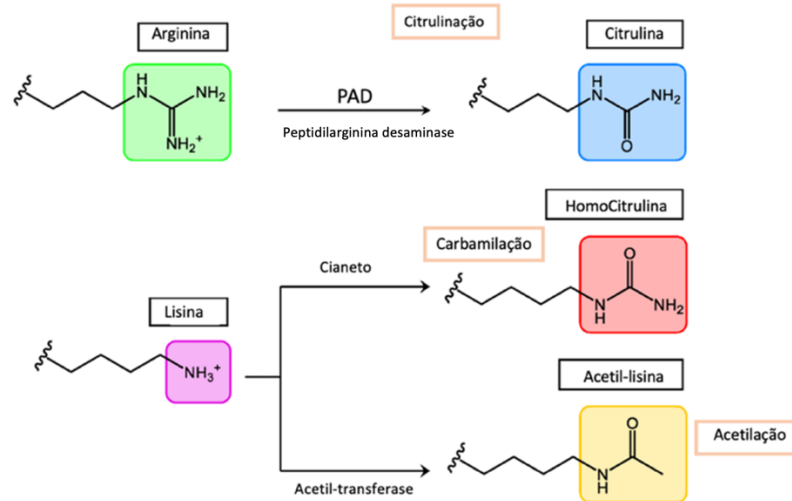
A origem da AR ainda hoje é desconhecida, pelo que o mecanismo fisiopatológico desta patologia representa um desafio na prática clínica. Vários fatores podem contribuir para o desenvolvimento da AR, sendo que a componente genética é um dos mais relevantes. Para além da componente genética, existem outros fatores que contribuem para o desenvolvimento da AR tais como, o sexo feminino, fatores epigenéticos e fatores ambientais, de entre os quais incluem o tabagismo, a exposição à sílica, a deficiência de vitamina D (37).

Em relação à sua patogénese, acredita-se que esta envolve três mecanismos: (I) Mudanças pós-tradução, também conhecidas por “PTMs” (do inglês: *Post-translational modifications*), o (II) é a ativação da resposta imunitária adaptativa pelas APCs (células apresentadoras de antígenos) e por último, o (III) é a produção de fatores inflamatórios pelas células do estroma (37,48-49).

As PTMs podem ser reações reversíveis ou irreversíveis, e ocorrem em certos aminoácidos de algumas proteínas depois da translação. A produção destas proteínas, é geralmente a consequência de uma resposta fisiológica ao stress celular, que pode causar a libertação de produtos celulares, tais como espécies reativas de oxigénio e enzimas que promovem a modificação de resíduos de aminoácidos. Adicionalmente, o tabagismo é um dos fatores ambientais que se encontra associado ao fenómeno das PTMs, sendo por esta razão considerado um fator de risco significativo para o início da autoimunidade da AR (48).

As PTMs estão envolvidas ao nível da regulação da atividade biológica de certas proteínas, por isso influenciam o processo celular e conseqüentemente, a sua desregulação. As proteínas modificadas podem desencadear a formação de novos epítomos, que vão ser determinantes para a quebra da tolerância imunológica, devido a estes serem diferentes das auto-proteínas às quais o sistema imunitário já é tolerante, tornando-se deste modo “estranhos” ao organismo (48-49).

As mudanças pós-tradução amplamente estudadas, que ocorrem no tecido sinovial, e que são consideradas como mais relevantes são a citrulinização, a homocitrulinização (carbamilização) e a acetilação (Figura 4.3). Entre elas, a citrulinização é a PTM mais estudada, assim como os respetivos ACPAs (48).



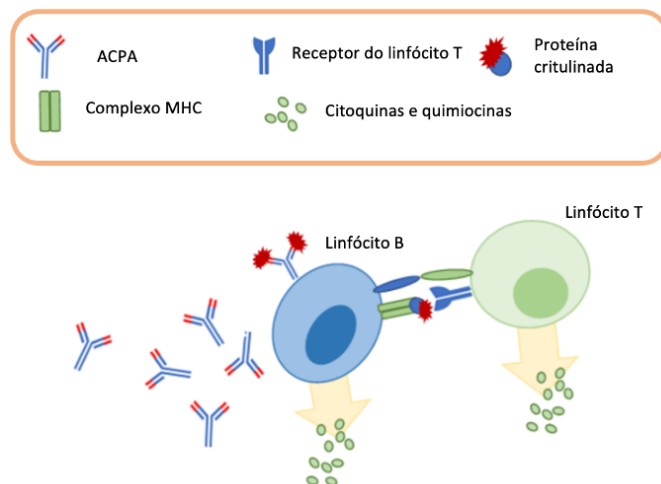
**Figura 4.3** – Representação das principais mudanças pós-transdução em proteínas envolvidas na patogênese da Artrite Reumatóide e os mecanismos associados (Adaptado de (48)).  
**Abreviaturas:** PAD, Peptidilarginina desaminase.

A reação de citrulinação consiste na conversão da arginina num aminoácido citrulina não essencial pela enzima peptidilarginina desaminase (PAD), que se encontra na membrana sinovial da articulação (48). A carbamilação é uma reação não enzimática de PTMs, que resulta da conversão de resíduos de lisina em resíduos homocitrulinados seguido da reação com o cianeto, formando os anticorpos anti-proteínas carbamilados (49). Os anticorpos anti-proteínas carbamilados estão presentes em aproximadamente 45% dos doentes com AR inicial e são encontrados principalmente em doentes com ACPA positivo, mas também em 10-20% dos doentes com ACPA negativo (49). Uma atividade extensa da reação de carbamilação pode desencadear vários processos no organismo, tais como, respostas imunitárias primárias, quimiotaxia, ativação de linfócitos T, produção de anticorpos e produção de interleucinas (IL-10, IL-17) e interferão gama (IFN- $\gamma$ ), que são citocinas pró-inflamatórias (50).

Já a acetilação é um processo enzimático reversível (equilíbrio entre acetilases e desacetilases), em que grupos acetilo são adicionados a aminas livres de resíduos de lisina (49). Este processo é essencial na regulação das vias metabólicas e das funções enzimática de diversas proteínas. Adicionalmente, foram detetados anticorpos IgG e Imunoglobulina A contra péptidos de vimentina acetilados, em aproximadamente 35% dos doentes com artrite precoce (50).

O outro mecanismo (II) é a Ativação da resposta imunitária adaptativa pelas APCs, ao nível dos tecidos linfáticos secundários, que leva à formação dos autoanticorpos. Os tecidos linfáticos secundários são responsáveis pela ativação dos linfócitos T e B, que ao reconhecer os autoantígenos, desencadeiam a produção de autoanticorpos como o FR e os ACPAs presentes

na articulação de doentes com AR. A produção de citocinas inflamatórias é mediada pelas proteínas citrulinadas, após a sua ligação aos recetores dos autoanticorpos e do heterodímero do MHC, que estão na superfície dos linfócitos B. Esta interação leva à diferenciação/maturação dos linfócitos T, de forma a produzir várias citocinas pró-inflamatórias (Figura 4.4) (37).



**Figura 4.4** – Ativação da resposta imunitária adaptativa pelas células apresentadoras de antígenos (Adaptado de (51)).

O último mecanismo (III) é a produção de fatores inflamatórios pelas células do estroma, como os sinoviócitos semelhantes a fibroblastos (FLS), as APC e os macrófagos. Após a sua ativação, estes fatores vão desencadear uma resposta autoimune por parte do sistema imunitário, provocando a inflamação sinovial. Porém, acredita-se que para isto acontecer, é necessário um estímulo exterior que leva à formação de complexos imunitários e à ativação do complemento, de forma a induzir ou aumentar a produção de citocinas. Este fenómeno leva ao aumento da permeabilidade vascular, o que resulta num influxo de células inflamatórias para a membrana sinovial da articulação, dando origem à sinovite clínica (37). Existem duas células que são essenciais para o desenvolvimento da AR, os macrófagos e os FLS (37).

Os macrófagos vão desencadear o processo anti-inflamatório através da produção de citocinas como a IL-1, IL-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), que são citocinas pró-inflamatórias. Já os FLS vão produzir as metaloproteinases da matriz (MMPs), bem como mediadores inflamatórios tais como prostaglandinas e os leucotrienos. Estes fenómenos vão resultar na expansão significativa do revestimento da íntima da sinóvia, devido ao aumento do número de células e da ativação destes dois tipos de sinoviócitos (51).

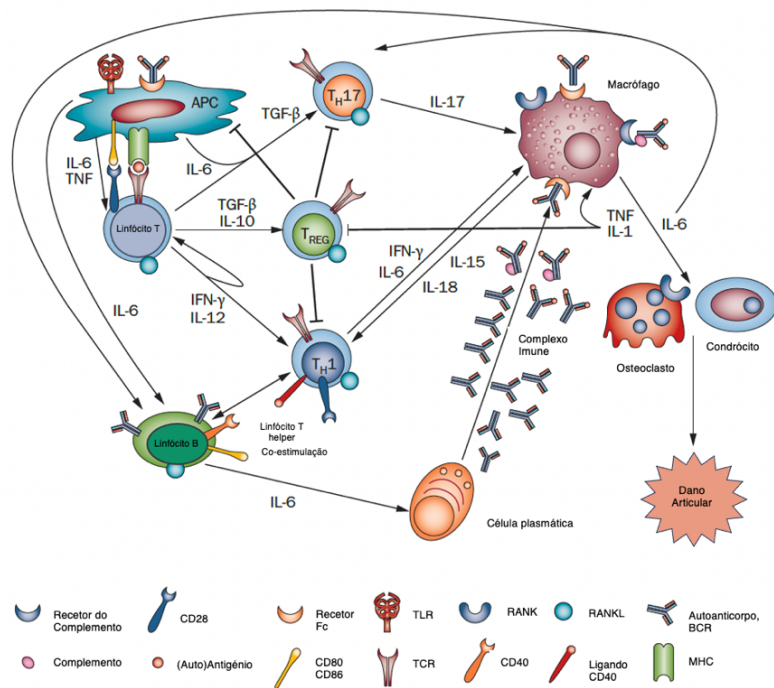
Os fenótipos dos linfócitos T mais predominantes na AR são o Linfócito T *helper* (Th)1 e Th17. Os linfócitos Th1 ativam os macrófagos de forma a atuarem como APCs, e estimulam a produção de várias citocinas pró-inflamatórias tais como o IFN- $\gamma$ , IL-2 e TNF- $\alpha$ . Já os Th17

não só estimulam a produção de citocinas pró-inflamatórias, mas também das MMPs, que promovem a formação do *pannus*, osteoclastogênese e a angiogênese sinovial. Em relação aos linfócitos B, vão expressar o ligando do recetor ativador do fator nuclear kappa-B (RANKL), uma citocina importante na regulação da homeostase e osteoclastogênese do osso.(51)

Em geral, estão envolvidos vários tipos de células no mecanismo patológico da AR, tais como linfócitos T, linfócitos B, monócitos/macrófagos, mastócitos, células dendríticas e fibroblastos, que se encontram em número alterado na membrana sinovial da cartilagem. Uma das principais características da AR é a formação de uma camada hiperplásica na articulação, designada como *pannus*.(47) Numa articulação saudável, a membrana sinovial e o líquido sinovial encontram-se entre as extremidades da cartilagem e da camada esponjosa do osso, atuando como um lubrificante. Na AR, a membrana sinovial começa a crescer descontroladamente, contribuindo para o processo inflamatório. A inflamação da membrana leva à dilatação da mesma, formando o *pannus* que é constituído por fibroblastos, macrófagos e outras células (52).

Enquanto a degradação da cartilagem é principalmente mediada pelas MMPs, a destruição óssea é mediada pela formação e ativação de osteoclastos. A propagação e a intensificação da inflamação devem-se aos linfócitos B e à formação dos complexos imunes (agregado de anticorpos contra um determinado antigénio), que são depositados na cartilagem e estimulam o processo de inflamação (47).

Na Figura 4.5 estão representados vários fatores que contribuem para o processo inflamatório e para a destruição da cartilagem tais como citocinas, linfócitos T, recetores, células do complexo imune, osteoclastos, entre outros (53).



**Figura 4.5-** Mecanismo fisiopatológico da Artrite Reumatóide (Adaptado de (53)).

**Abreviaturas:** APC, Célula apresentadora de antígenos; AR, Artrite Reumatóide; IFN- $\gamma$ , Interferão Gama; IL- Interleucina; RANK, Ativador do recetor do fator nuclear- $\kappa$ B; RANKL, Ligando RANK; TCR, Recetor de linfócitos T; TGF- $\beta$ , Fator de crescimento do transformador  $\beta$ ; Th, Linfócito T helper; TLR, Receptor Toll-like; TREG, Célula T-reguladora.

#### 4.1.1 Osteoimunologia

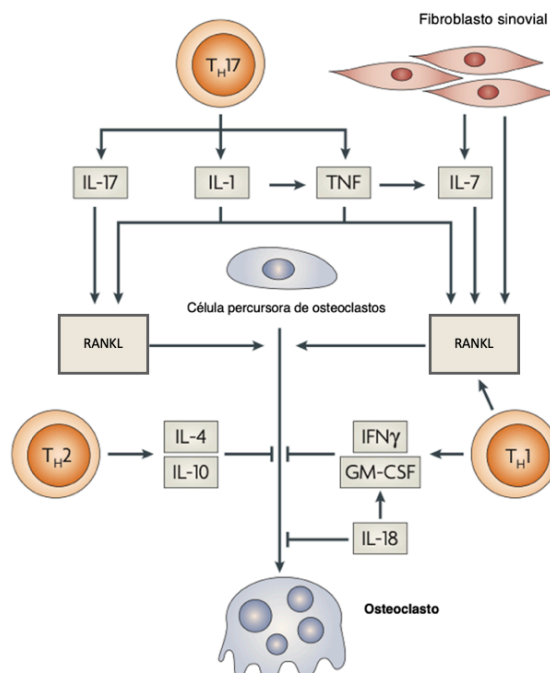
A osteoimunologia é um campo de investigação interdisciplinar centrado na compreensão molecular da interação entre o sistema imunitário e o sistema esquelético. A origem desta área investigacional centrou-se na necessidade de estudar a regulação imunitária dos osteoclastos, mas ao longo dos anos descobriu-se que, os sistemas imunitário e esquelético partilham uma série de moléculas reguladoras, incluindo citocinas, recetores, moléculas de sinalização e fatores de transcrição. Um dos fundamentos da osteoimunologia é o reconhecimento de que as células imunitárias e os osteoclastos, derivam da mesma origem: células estaminais hematopoiéticas, produzidas na medula óssea. A osteoimunologia contribuiu significativamente para a compreensão do mecanismo da destruição das articulações na AR e noutras formas de artropatias. Em particular, na regulação molecular da formação de osteoclastos e o no seu controlo por citocinas pró-inflamatórias, o que contribuiu para a compreensão dos mecanismos da erosão óssea nas doenças reumáticas e no desenvolvimento de novas terapias. Os conceitos mais relevantes para a AR envolvem (I) a regulação da degradação óssea pelo sistema imunitário, (II) a interação entre inflamação e a formação óssea,

e (III) o papel do osso e da medula óssea e das células imunitárias, no entanto os últimos dois ainda não são bem compreendidos (54-55).

A erosão inflamatória presente na AR deve-se ao aumento de número de osteoclastos nas articulações. Este aumento envolve dois mecanismos principais, sendo o primeiro, a acumulação de células precursoras de osteoclastos na articulação, e em segundo lugar, a estimulação da diferenciação dessas células para a linhagem de osteoclastos. Os precursores dos osteoclastos são células mononucleares pertencentes à linhagem de monócitos/macrófagos, sendo que as células precursoras monocíticas iniciais, têm o potencial de se diferenciar em macrófagos, células dendríticas, osteoclastos e outros tipos de linhagens celulares mais específicas. Além disso, citocinas como o TNF vão induzir a expressão de recetores na superfície dos monócitos, que vão ser essenciais na diferenciação de osteoclastos (55).

Um dos recetores mais importantes, é o OSCAR (do inglês: *osteoclast-associated recetor*), cuja função consiste na coestimulação dos osteoclastos. A diferenciação dos osteoclastos depende do fator estimulador de colônias de macrófagos (GM-CSF) e do RANKL, bem como de sinais coestimuladores induzidos por recetores, incluindo o recetor associado a osteoclastos (OSCAR e o recetor de desencadeamento expresso em células mielóides (55-56). Os osteoclastos formam-se quando os monócitos que expressam o recetor ativador do fator nuclear-kappa B (RANK) sofrem diferenciação após a ligação do RANK ao RANKL, recetor expresso pelos fibroblastos sinoviais e pelos linfócitos T ativados. Neste sentido, os fibroblastos sinoviais promovem a produção de osteoclastos através do RANKL, produzem citocinas e quimiocinas inflamatórias, bem como MMPs e inibem os osteoblastos, contribuindo para a destruição óssea (56). Os principais linfócitos envolvidos são os Th1, Th2 e os Th17, mas as funções que exercem são diferentes (57).

Os linfócitos Th17 têm efeitos estimulantes na osteoclastogênese e desempenham um papel importante na patogênese da AR através da IL-17, enquanto os linfócitos Th1 e Th2 têm efeitos inibitórios na osteoclastogênese através da produção do IFN- $\gamma$  e da IL-4, respetivamente. A IL-17 para além de estimular a produção de RANKL, também participa na inflamação local, levando à regulação positiva de citocinas inflamatórias tais como, o TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-7 (Figura 4.6) (58).



**Figura 4.6**-Os fatores-chave que regulam a diferenciação dos osteoclastos na Artrite Reumatóide (Adaptado de (59)).

**Abreviaturas:** GM-CSF, Fator estimulador de colônias de macrófagos; IFN- $\gamma$ , Interferão gama, IL, Interleucina, Th, Linfócito T *helper*, TNF, Fator de necrose tumoral, RANKL, Ligando do receptor ativador do fator nuclear kappa B.

As citocinas desempenham um papel fundamental na manutenção da homeostase óssea. Estão divididas em citocinas osteoclastogênicas, incluindo o TNF- $\alpha$ , a IL-1, a IL-6, a IL-7, a IL-8, a IL-11, e a IL-17, que promovem a diferenciação dos osteoclastos, enquanto as citocinas anti-osteoclastogênicas, incluindo o IFN- $\gamma$ , a IL-3, a IL-4, a IL-10 e a IL-12, regulam negativamente a diferenciação dos osteoclastos. Por conseguinte, a regulação dinâmica das citocinas osteoclastogênicas e anti-osteoclastogênicas é muito importante para manter o equilíbrio entre os osteoclastos (reabsorção óssea) e os osteoblastos (formação óssea) (60).

No Quadro 4.1, estão representadas as principais citocinas que participam regulação na diferenciação dos osteoclastos.

**Quadro 4.1-**Principais citocinas que participam na regulação da diferenciação de osteoclastos (Adaptado de (54)).

Citocinas	Efeito na osteoclastogênese	Principais células produtoras	Principais células-alvo na regulação dos osteoclastos	Consequências no contexto da osteoimunologia
IFN $\gamma$	Inibição	Linfócitos Th1 e células NK	Células precursoras de osteoclastos	Imunidade celular; Inibição da sinalização RANKL
IL-4	Inibição	Linfócitos Th2 e células NKT	Células precursoras de osteoclastos	Imunidade humoral; Inibição da sinalização RANKL
IL-6	Ativação	Linfócitos Th2 e células dendríticas	Células mesenquimais e linfócitos T	Ação pró-inflamatória; Indução de RANKL nas células mesenquimais; Diferenciação de linfócitos Th17
IL-10	Inibição	Linfócitos Th2	Células precursoras de osteoclastos	Anti-inflamatória; Inibição da sinalização RANKL
GM-CSF	Inibição	Linfócitos Th1	Células precursoras de osteoclastos	Diferenciação de granulócitos; Inibição da sinalização RANKL
IL-12	Inibição	Macrófagos e células dendríticas	Linfócitos T	Diferenciação de linfócitos Th1; Indução de IFN- $\gamma$ e GM-CSF
IL-17	Ativação	Linfócitos Th17 e linfócitos T memória	Células mesenquimais	Inflamatória; indução de RANKL nas células mesenquimais
IL-18	Inibição	Macrófagos e células dendríticas	Linfócitos T	Diferenciação de linfócitos Th1 e indução de IFN- $\gamma$
RANKL	Ativação	Linfócitos T e células mesenquimais (osteoblastos)	Precursor de osteoclastos	Indução da diferenciação de osteoclastos
TNF	Ativação	Macrófagos e linfócitos Th1	Precursor de osteoclastos e células mesenquimais	Pró-inflamatória; Indução de RANKL nas células mesenquimais; Sinergia com o RANKL

**Abreviaturas:** GM-CSF, Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos; IFN- $\gamma$ , Interferão- $\gamma$ ; IL, Interleucina; NK, *Natural killer*; NKT, *natural killer T*; RANKL, Ligando do recetor ativador do fator nuclear-kappa B; Th, Linfócito T *helper*; TNF, Fator de necrose tumoral.

Outro fator muito importante para a compreensão de como a modelação e a remodelação óssea são reguladas foi a descoberta do sistema RANKL/RANK/osteoprotegerina (OPG) e o seu papel na regulação da reabsorção óssea, atuando como um sistema regulador da diferenciação dos osteoclastos (61-62).

A OPG é segregada por osteoblastos e células estaminais estromais osteogénicas. A OPG protege o esqueleto da reabsorção óssea excessiva, pela ligação ao RANKL, o que vai impedir a sua ligação ao RANK, inibindo assim a maturação dos osteoclastos. O RANKL e a OPG são membros da superfamília do TNF e do recetor de TNF, respetivamente, e a sua ligação ao RANK não só regula a formação, ativação e sobrevivência dos osteoclastos na modelação e remodelação ósseas normais, mas também em várias outras condições patológicas caracterizadas por um aumento do metabolismo ósseo (62-63). A regulação positiva da expressão de RANKL por citocinas e fatores de crescimento está associada pelo menos a uma

menor indução de OPG, pelo que o rácio RANKL para OPG muda a favor da osteoclastogénese.

<sup>(63)</sup> A descoberta do RANKL, RANK e OPG levou ao desenvolvimento de inibidores específicos do RANKL, como o OPG e o denosumab (anticorpo monoclonal) (61).

## 4.2 Fatores de risco

Como já foi referido, a etiologia da AR ainda permanece desconhecida. Porém, através de estudos epidemiológicos foi possível associar vários fatores de risco com a evolução da patologia. A AR é uma doença multifatorial que resulta de interações entre fatores genéticos e ambientais, fatores individuais e de estilo de vida que vão ter impacto no curso da doença. Os fatores de risco relacionados com o doente podem ser divididos em genéticos, epigenéticos, hormonais, reprodutivos e neuroendócrinos e fatores comórbidos. Por sua vez, os fatores de risco ambientais incluem o tabagismo e outras exposições atmosféricas, a microbiota e os agentes infecciosos, a dieta. Por último, os fatores socioeconómicos também devem ser considerados como um fator de risco. Dos fatores mencionados, os que se revelam mais importantes para o desenvolvimento da AR são os genéticos e o tabagismo (42,64).

### 4.2.1 Fatores genéticos

Há muito que se reconhece que ter uma história familiar de AR aumenta a probabilidade de um indivíduo desenvolver a doença, e a hereditariedade da AR foi estimada em cerca de 60% (65). Naquele que é talvez o estudo mais influente da implicação familiar na AR, Macgregor *et al.*, compilou dados de dois estudos realizados em indivíduos gémeos previamente publicados para estimar a hereditariedade. O primeiro consistiu num estudo de gémeos finlandeses do mesmo sexo com AR, e relatou taxas de concordância entre pares de 12% em gémeos monozigóticos e 3% em gémeos dizigóticos (66). O segundo estudo recrutou 203 pares de gémeos no Reino Unido, tendo registado uma taxa de concordância de 15% nos pares de gémeos monozigóticos e de 4% nos pares de gémeos dizigóticos (66). Estes estudos procuravam identificar genes associados à doença e conseguiram destacar, consistentemente, uma família de genes em particular: os alelos HLA-DRB1, que se encontram no MHC humano no cromossoma 6 (66). Curiosamente, foi recentemente demonstrado que o risco é mais elevado na AR ACPA-positiva (50%), em comparação com a doença ACPA-negativa (20%) (65-66).

Com a crescente compreensão da arquitetura do locus HLA, em particular do HLA-DRB1, tornou-se evidente que esta associação está relacionada com um grupo de alelos denominados de “alelos de epítipo partilhado” (SE) (67). A hipótese do SE foi introduzida numa tentativa de encontrar características comuns entre diferentes alelos ou haplótipos no HLA-DRB1 (67). O termo “epítipo partilhado” foi originado no final dos anos 80, após a descoberta de que a maioria dos doentes com AR partilhavam os mesmos resíduos de uma sequência de 5 aminoácidos (ou seja, QKRAA, QRRRA ou RRRRA) localizados nas posições

70-74 da proteína DR $\beta$ , codificado por vários alelos DRB1 distintos em indivíduos que expressam haplótipos DR4 e não DR4 (68). Seguindo esta hipótese, vários haplótipos DRB1 foram combinados num único grupo de alelos SE em vários estudos, e comparados com um grupo de referência de outros haplótipos. Os que representam os alelos SE são DRB1\*01, \*04 e \*10 (67).

O risco associado a estes alelos está relacionado com os alelos específicos e a presença dos mesmos em certas populações. Por exemplo, nos caucasianos os alelos codificadores de SE predominantes são HLA-DRB1\*0101/\*0401/\*0404, enquanto nos asiáticos, os alelos codificadores de SE mais comuns são HLA-DRB1\*0405/\*0901, e nos nativos americanos o mais comum é o HLA-DRB1\*1402. É importante sublinhar que a presença dos alelos HLA SE explicou 18% da variância genética da AR ACPA-positiva, mas apenas 2,4% da variância genética da AR ACPA-negativa (42,68,69). Os alelos HLA-DRB1 constituem a associação genética mais forte para a AR, sendo que 30% do risco genético é explicado pela região MHC, o que levou ao estudo significativo do impacto dos genes não HLA (67).

Desde o início deste século, foram identificados vários locuses de risco não HLA através de *genome wide association studies* (GWAS). Atualmente, sabe-se que mais de 150 loci estão associados ao risco de AR. No entanto, apenas 20% do locus GWAS contêm variantes codificantes, sendo que as restantes variantes ocorrem em regiões não codificantes e, por conseguinte, a maioria dos genes causais e das variantes causais ainda não foram identificados (42,70).

A variante não HLA, mais importante na AR é o Polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) rs2476601 da tirosina fosfatase não-recetora 22, (PTPN22, (do inglês, *Protein tyrosine phosphatase non receptor type 22*)) R620W (1858C→T), esta associação está presente na AR e noutras doenças autoimunes, maioritariamente em caucasianos (68,70). A PTPN22 codifica uma proteína tirosina fosfatase que é expressa em células hematopoiéticas e atua como um regulador negativo da sinalização do recetor de antigénio nos linfócitos T e B (67,70).

Outro polimorfismo importante associado a AR envolve o peptidilarginina desaminase 4 (PAD4), o gene responsável pela conversão de resíduos de arginina em resíduos de citrulina na enzima PAD4. Este gene pode desempenhar um papel determinante no desenvolvimento de granulócitos e macrófagos, levando à inflamação e à resposta imunitária tendo já demonstrado estar associada à AR principalmente em asiáticos (67,71).

Adicionalmente, foi identificado um SNP que está associado ao aumento de risco de desenvolver AR, nos doentes soropositivos, especialmente nas populações europeias. Este polimorfismo afeta o fator associado ao recetor 1/componente complementar 5 do TNF

(TRAF1/C5) (72). O TRAF1 está envolvido na proliferação celular, apoptose e ativação de citocinas e também regula as vias de sinalização de proteínas da superfamília TNF (73). Está comprovado que os níveis deste recetor se encontram significativamente elevados em doentes com AR e a expressão de TRAF1 também está relacionada com a atividade da doença (73).

A proteína 4 associada aos linfócitos T citotóxicos (CTLA-4), representa um dos genes de suscetibilidade não-HLA na AR. A sua expressão ocorre ao nível da superfície dos linfócitos T reguladores, linfócitos T *helpers* e também suprime as respostas dos linfócitos T autorreativos através da regulação negativa dos ligandos para o recetor coestimulador CD28, de modo a provocar sinais inibitórios. Os SNP's associados ao gene CTLA-4, podem contribuir para níveis anormais da mesma e, subsequentemente, desempenhar um papel preponderante na suscetibilidade à AR (74).

Outro polimorfismo relacionado com a AR é o haplótipo STAT4 (transdutor de sinal e ativador da transcrição 4) (rs7574865), que também constitui um fator de risco para outras doenças autoimunes tais como, o lúpus eritematoso sistémico e a síndrome de Sjögren primária. Ao contrário dos outros polimorfismos, este está presente na população Caucasiana e Asiática e está associado a doentes com ACPA positivo e negativo. O STAT4 codifica um fator de transcrição que transmite sinais induzidos por várias citocinas-chave, incluindo a IL-12 e a IL-23. O STAT4 também é necessário para a sinalização em células dendríticas maduras em resposta a interferões do tipo 1. Assim, podem existir múltiplos mecanismos através dos quais a variação genética no STAT4 pode influenciar as respostas imunitárias e predispor para a autoimunidade (75-76).

#### **4.2.2 Fatores epigenéticos**

A epigenética refere-se a todas as alterações hereditárias mitóticas e meióticas na expressão genética, que não envolvem alterações na sequência de ácido desoxirribonucleico (DNA, do inglês: *Deoxyribonucleic acid*). As alterações epigenéticas resultam da interligação dos fatores ambientais e fatores genéticos. Estas alterações podem ser provocadas por fatores externos como a dieta, medicamentos e o tabaco. As principais alterações que têm demonstrado aumentar a suscetibilidade para a AR são a metilação do DNA, as modificações pós-traducionais das histonas e dos ácidos ribonucleicos (RNA, do inglês: *Ribonucleic acid*) não codificantes (42,77).

As alterações epigenéticas da metilação do DNA, ao nível das células mononucleares do sangue periférico e FLS incluem a hipometilação global, bem como a hipo ou hipermetilação de regiões promotoras específicas, levando ao aumento ou diminuição da transcrição de genes

pró-inflamatórios como a IL-6, o recetor da interleucina 6 e CD40L (do inglês: *CD40 ligand*) ou genes anti-inflamatórios como a CTLA-4 em linfócitos Treg (42).

As modificações das histonas desempenham um papel fundamental na epigenética, influenciando a expressão dos genes e, conseqüentemente, determinando o fenótipo das células. A epigenética das histonas pode ser alterada através de vários mecanismos, como a acetilação, metilação, citrulinização, fosforilação, ubiquitinação e sumoilação. O mecanismo mais estudado é a reação de acetilação no sangue e no tecido sinovial de doentes com AR. Muitos estudos demonstraram o impacto dos inibidores das histonas desacetilases (HDAC) na supressão da inflamação, das respostas de IL-6 e do interferão 1, da angiogénese e da sobrevivência de FLS e macrófagos (42,78).

Os RNAs não codificantes são outro meio de regulação epigenética e incluem os microRNAs (miRNAs, cerca de 22 nucleótidos) e os RNAs não codificantes longos (mais de 200 nucleótidos), ambos extensivamente estudados na suscetibilidade, gravidade e tratamento da AR. Os miRNAs são RNAs não codificantes que se ligam ao RNA mensageiro (mRNA), levando à sua eliminação ou ao bloqueio da sua tradução (79).

Existe uma grande variedade de miRNAs que são diferencialmente expressos e desregulados na AR, afetando os genes que codificam citocinas, quimiocinas e moléculas de sinalização relacionadas com a inflamação. Foram identificados mais de uma de dezena de RNAs não codificantes longos, com expressão diferencial na AR, sendo demonstrado que o seu envolvimento está relacionado com a regulação da inflamação e das vias de degradação da matriz em FLS, linfócitos T e monócitos (42,79).

#### **4.2.3 Fatores hormonais, reprodutivos e neuroendócrinos**

Devido à elevada prevalência da AR nas mulheres há muito que se averigua o papel dos fatores hormonais do sexo feminino como predisponentes para a doença. Nos fatores hormonais femininos estão englobadas características reprodutivas ou eventos associados a alterações nos níveis séricos de hormonas sexuais, principalmente os estrogénios e a progesterona. Eventos como a gravidez, o pós-parto, a amamentação, a menopausa ou o uso de esteroides sexuais exógenos, como contraceptivos orais ou terapia de reposição hormonal podem constituir fatores de risco para a AR. Os estrogénios têm efeitos estimulantes e inibitórios no sistema imunitário, tendo uma ação pró-inflamatória ou anti-inflamatória. A sua ação depende da concentração sérica, do estágio reprodutivo ou da fase de envelhecimento dos ovários (reprodutiva, transição menopáusicas ou pós-menopáusicas), da expressão dos recetores de estrogénios ou do metabolismo intracelular. Alguns fatores hormonais femininos têm sido descritos como fatores

de proteção. No entanto, alguns (como a gravidez, a amamentação, a utilização de terapia de reposição hormonal ou contraceptivos orais) foram considerados fatores de proteção e de risco para o desenvolvimento de AR. Porém, o papel de alguns fatores ainda é controverso (80).

O sistema neuroendócrino e a sua relação com o sistema imunitário têm sido implicados na AR. Quando a inflamação sistêmica está presente, tanto o eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal como o sistema nervoso autónomo são fisiologicamente ativados centralmente, numa tentativa de suprimir a inflamação periférica. Isto só é possível, através de hormonas anti-inflamatórias (cortisol, androgénios suprarrenais) e os neurotransmissores (noradrenalina, adenosina e endorfina). Vários estudos demonstraram que estas vias estão desreguladas na AR, contribuindo para um ambiente pró-inflamatório ao nível da articulação e, conseqüentemente, à sinovite (42).

#### **4.2.4 Fatores associados à comorbilidade**

Foram observadas associações epidemiológicas de outras doenças aparentemente não relacionadas com um aumento de risco futuro de desenvolver AR. A inflamação crónica da mucosa das vias respiratórias pode resultar na perda de tolerância imunitária, na formação de neoantígenos e na produção de autoanticorpos relacionados com a AR, que aumentam o risco subsequente de desenvolver a doença. Vários estudos demonstraram que a asma e a doença pulmonar obstrutiva constituem fatores de risco para a AR, apesar de existirem alguns estudos que não corroboram esta hipótese (81-83).

A depressão está associada a um aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias sistêmicas, incluindo o TNF- $\alpha$ . Dado que estas citocinas estão envolvidas na fisiopatologia da AR, acredita-se que a depressão possa contribuir como um fator de risco da doença. Num estudo que avaliou mais de 5 milhões de doentes ao longo de 25 anos, verificou-se que os doentes com perturbações do humor e de memória acarretaram um risco de 38% de desenvolver posteriormente AR, mas este risco pode ser reduzido através do tratamento com antidepressivos (84).

Várias doenças imunomediadas não reumatológicas, nomeadamente doenças autoimunes da tiroide, como a tiroidite de Hashimoto e a doença de Graves, foram identificadas como potenciais fatores de risco para o desenvolvimento de AR. Ambas as doenças partilham fatores de risco em comum, como a presença do alelo de risco PTPN22\*R620W, mas diferentes alelos do *locus* HLA-DRB1 estão associados a estas doenças (85). Os doentes com tiroidite de Hashimoto (hipotiroidismo) precisam de fazer terapia de substituição, como por exemplo a levotiroxina sódica. Um estudo demonstrou que a levotiroxina sódica duplica o risco de

desenvolver AR, tanto nos indivíduos ACPA-positivos como ACPA-negativos (85). Também é necessário salientar que, embora os sintomas articulares possam ser uma manifestação de hipotireoidismo, os médicos devem considerar a possibilidade de se tratar de uma manifestação precoce de AR (85).

Outra doença autoimune que pode constituir um risco para o desenvolvimento da AR é a dermatite atópica (86-87). A dermatite atópica e as doenças autoimunes podem partilhar vias imunológicas comuns. Uma das vias comum à AR e a dermatite atópica é a de sinalização Th1/Th17 (88). Apesar do papel da dermatite atópica no risco de desenvolver AR ainda ser controverso, muitos estudos demonstram que a mesma constitui um risco (86-88).

#### **4.2.5 Obesidade**

A relação entre a obesidade e a AR ainda não é clara, contudo foi previamente demonstrado que a obesidade aumenta a atividade da AR e as suas comorbilidades (doença cardiovascular, diabetes *mellitus* tipo 2, doença pulmonar crónica), ao mesmo tempo que diminui a qualidade de vida dos doentes, bem como as taxas de remissão da doença. O estado de obesidade corresponde a uma inflamação sistémica de baixo grau, devido ao aumento dos níveis da proteína C-reativa (PCR) sendo que, um aumento da adiposidade está associado a um aumento da produção de moléculas pró-inflamatórias, por isso a obesidade é atualmente considerada um estado pró-inflamatório (89-90).

Por conseguinte, pensa-se que o aumento da inflamação associado à obesidade contribui para o risco e o prognóstico da AR. O tecido adiposo tem como papel fisiológico o armazenamento de energia em condições de excesso calórico, mas também participa na regulação de outros processos fisiológicos e patológicos. O tecido adiposo produz e secreta uma variedade de fatores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios, incluindo as adipocinas leptina, adiponectina, resistina e visfatina, e bem como citocinas e quimiocinas, incluindo o TNF- $\alpha$ , e a IL-6 (89).

Vários estudos, demonstram que existe uma correlação entre a obesidade e a AR, sendo que, a primeira apresenta um risco e contribui para o aumento da gravidade da doença (91-93).

No Quadro 4.2 estão representadas várias adipocinas envolvidas no processo inflamatório e o seu potencial contributo para o desenvolvimento da AR.

**Quadro 4.2.** – Associação das adipocinas com a obesidade, a inflamação e o seu potencial papel na AR (Adaptado de (90)).

		Na Artrite Reumatóide		
Adipocinas	Efeitos na obesidade	Efeitos na inflamação	Níveis	Efeitos na atividade da doença
<b>Leptina</b>	↑ Concentração plasmática	↑ Ativação dos linfócitos T ↓ Apoptose de timócitos ↑ Maturação de timócitos ↓ Proliferação de linfócitos T de memória ↑ Linfocitopoiese ↑ Proliferação de monócitos/macrófagos, fagocitose e produção de IL-1, IL-6, TNF ↑ IL-1RA ↑ COX2 ↑ Maturação de células dendríticas e produção de citocinas Th1, Th2, IL-1β, IL-12, IL-6, TNF	↑↓ ou =	Provavelmente nenhuma
<b>Adiponectina</b>	↓ Concentração plasmática	↓ Linfocitopoiese dos linfócitos B ↓ Respostas dos linfócitos T ↓ Fagocitose ↓ Moléculas de adesão endotelial ↑ IL-10, IL-1RA, IFN-γ ↓ TNF, NF-κB, IL-6 ↑ IL-8 (CXCL8) Forma HMW + LPS	↑	Implicada na patogénese da AR Possivelmente ↑ atividade
<b>Resistina</b>	↑↓ Ou = concentração plasmática	↑ Moléculas de adesão endotelial ↑ NF-κB ↑ IL-1β, IL-12, IL-6, TNF	=	↑ Atividade (moderada)
<b>Visfatina</b>	↑ Concentração plasmática	↓ Apoptose de neutrófilos ↑ Quimiotaxia ↑ IL-1RA, IL-1β, IL-8, IL-6, TNF	↑	Possivelmente ↑ atividade

**Abreviaturas:** [↑], Aumentado; [↓], Diminuído; =-, Inalterado; **COX2**, Cicloxigenase 2; **HMW**, Alto peso molecular; **IFN-γ**, Interferão gama; **IL**, Interleucina **IL-1RA**, Antagonista do recetor da interleucina 1; **LPS**, Lipopolissacarídeo; **NF-κB**, Fator nuclear kappa B; **Th**,Linfócito T *helper*; **TNF**,Fator de necrose tumoral.

#### 4.2.6 Vitamina D

Os níveis reduzidos de vitamina D e a deficiência de vitamina D são comuns em doentes com AR (94). Foi demonstrado que a vitamina D tem efeitos imunomoduladores, incluindo a inibição da IL-2, a proliferação de linfócitos e a produção de anticorpos (95). Para além disso, a vitamina D é conhecida por ter efeitos anti-inflamatórios a diferentes níveis, participando tanto nos processos da imunidade inata como na adaptativa. Sabe-se que a mesma pode afetar diretamente células imunitárias, incluindo macrófagos, células dendríticas, linfócitos e FLS (94-95).

Existem alguns fatores genéticos que podem estar relacionados com os níveis da vitamina D no organismo, tais como SNPs em genes como o recetor da vitamina D, proteína de ligação à vitamina D e na CYP27B1 (enzima ativadora da 25-hidroxi-vitamina D 1α-hidroxilase). Estes fatores podem estar associados à AR, sugerindo uma componente genética na relação entre a vitamina D e a doença (42).

A relação entre a vitamina D e a AR ainda não é totalmente compreendida, e os estudos apresentam resultados mistos. Ainda assim, existem provas que apoiam a sua importância no

prognóstico dos doentes com AR, sendo que a deficiência de vitamina D está associada a piores resultados na AR, incluindo o aumento da atividade da doença e a redução da qualidade de vida (96-97).

#### **4.2.7 Tabagismo**

Há mais de 30 anos que se sabe que existe um fator de suscetibilidade genética na AR que contribui em 50%-60% para o desenvolvimento da doença, sendo que o restante advém de diversos fatores de risco. Muitos estudos suportam o envolvimento de fatores ambientais e a sua relação complexa com os fatores genéticos no desenvolvimento da AR. Dentro dos fatores ambientais, estão presentes o tabagismo, a exposição a determinados microrganismos e a certas substâncias, dieta, álcool e fatores socioeconômicos, que irão ser abordados posteriormente (98).

O tabagismo é o fator de risco comportamental mais bem estabelecido para a AR. O tabagismo pode exercer efeitos sobre o risco de AR ao longo de todas as fases da doença. O hábito tabágico afeta múltiplos órgãos, principalmente o sistema respiratório e cardiovascular, mas também, tem impacto no sistema imunitário, pela produção de respostas inflamatórias. O tabaco não só influencia a resposta imunitária humoral como a celular, e pode ter efeitos pró e anti-inflamatórios, atuando como imunossupressor através de diversos mecanismos, que estão representados no Quadro 4.3 (98-99).

Vários estudos demonstraram que o tabagismo é o fator ambiental mais associado a AR, e o seu risco atribuível à população é de 25%, para toda a AR e de 35% para a AR soropositiva. Também foi demonstrado que o risco associado ao tabagismo é mais elevado nos homens do que nas mulheres (99-102).

É importante notar que o risco elevado associado ao tabagismo parece diminuir após a sua cessação, embora exista algum risco residual mesmo 30 anos depois de deixar de fumar. Em contrapartida, os estudos que avaliaram a exposição passiva ao fumo do cigarro não demonstraram, de forma consistente, associações claras entre a exposição ao fumo e o risco de desenvolver AR, embora a exposição passiva ao fumo em determinados momentos da vida, como na infância, possa predispor ao desenvolvimento de AR numa fase posterior (88-89).

Os mecanismos específicos pelos quais o tabagismo pode estar relacionado com a geração de autoimunidade relacionada com o AR são desconhecidos; no entanto, existem várias hipóteses para a sua relação com a patogênese (101). O aumento da resposta inflamatória observada nos fumadores, pode estar relacionada com o aumento do fibrinogénio sérico, a atividade dos linfócitos B autorreativos e o aumento das citocinas pró-inflamatórias, como o

TNF- $\alpha$  e a IL-6 (104). No entanto, a nicotina também tem efeitos imunossupressores, que resultam na redução das imunoglobulinas circulantes, na inibição da libertação de citocinas como a IL-1B, a IL-2 e o IFN- $\gamma$ .<sup>(104)</sup> Outras consequências inerentes ao consumo de tabaco são a morte celular e a alteração da proliferação celular. O tabaco também induz a produção de novos epítomos, quer diretamente, através da oxidação de epítomos existentes, ou indiretamente, interferindo na eliminação de células apoptóticas (98).

Apesar de não existir uma relação clara entre o fumo do tabaco e a AR, a exposição a radicais livres no fumo, pode levar à produção de radicais livres endógenos. Estes radicais podem interagir com o DNA e provocar mutações ou ativar genes que podem desencadear fenómenos e doenças autoimunes (98,104).

**Quadro 4.3-** Os efeitos mistos do tabagismo e da exposição à nicotina sobre a função do sistema imunitário (Adaptado de (100)).

Efeitos imunossupressores	Efeitos pró-inflamatórios
<p><b>Efeitos sobre as células dendríticas e a atividade de apresentação de antígenos:</b> -Supressão da maturação das células dendríticas e da libertação de citocinas.</p> <p><b>Ação sobre os neutrófilos e os macrófagos:</b> -Supressão das ações inflamatórias mediadas pelos neutrófilos. -Redução da atividade dos macrófagos contra organismos intracelulares.</p> <p><b>Ação sobre os linfócitos T:</b> -A nicotina inibe a resposta celular formadora de anticorpos, prejudica a sinalização mediada por antígenos nos linfócitos T e induz a falta de resposta dos linfócitos T a corpos estranhos.</p> <p><b>Efeitos sobre a imunidade humoral:</b> -Redução dos níveis circulantes de imunoglobulinas.</p> <p><b>Ação sobre os marcadores e mediadores inflamatórios</b> -Inibição da libertação de IL-1b, IL-2, IL-10, TNF-<math>\alpha</math> e IFN-<math>\gamma</math>. -Inibição da libertação de IL-8 pelas células endoteliais.</p> <p><b>Outros mecanismos gerais não específicos:</b> -Atenuação da sinalização do IFN-<math>\gamma</math>.</p>	<p><b>Ativação da imunidade adaptativa mediada pelas células dendríticas.</b></p> <p>Aumento dos níveis circulatórios de linfócitos T</p> <p>Relação CD4(p)/CD8(p) anormal. Favorecimento da atividade da via alérgica Th2.</p> <p>Aumento dos linfócitos B autorreativos.</p> <p>O tabagismo crónico aumenta os níveis de proteínas de fase aguda e de citocinas pró-inflamatórias, especialmente TNF-<math>\alpha</math>, recetores de TNF-<math>\alpha</math> e IL-6.</p> <p><b>Exposição e libertação de autoanticorpos:</b> Libertação de antígenos intracelulares por hipoxia tecidual ou necrose celular mediada por toxinas.</p> <p><b>Aumento da concentração de radicais livres, que interagem com o DNA.</b></p>

**Abreviaturas:** DNA, Ácido desoxirribonucleico; IFN- $\gamma$ , interferão gama; IL, Interleucina; Th, Linfócito T *helper*; TNF- $\alpha$ , Fator de necrose tumoral alfa.

Uma das descobertas mais importantes e mais estudada foi a interação entre um fator de risco genético bem conhecido (epítipo partilhado HLA-DRB1) e o tabagismo (105). Num estudo realizado por um grupo de investigadores suecos, foi demonstrado que os fumadores portadores de duas cópias do SE, apresentavam um risco 21 vezes superior, nos doentes ACPA positivos, em comparação com os não fumadores que não tinham uma cópia do SE (100). Em indivíduos portadores de duas cópias do HLA-DRB1 SE, 55% da AR positiva para ACPA foi atribuída ao tabagismo (102). Estes resultados sugerem uma forte interação gene-ambiente com um efeito dose-resposta, para os fatores genéticos e ambientais no risco de AR ACPA-positiva (102). O tabagismo também está associado ao aumento de produção de ACPAs, que podem estar presentes anteriormente à doença ou quando a doença já está estabelecida, neste caso, nos doentes com AR soropositivos para ACPAs. Estes anticorpos são formados através de um processo de citrulinização, uma alteração pós-traducional catalisada pela PAD, onde a estrutura da proteína é modificada e o reconhecimento destes anticorpos aumenta (106).

A peptidilarginina desaminase 2 (PAD2) e a PAD4 têm sido fortemente implicadas na patogénese da AR devido à sua capacidade de produzir autoantígenos citrulinados visados pelos ACPAs e pela sua presença na sinóvia de doentes com AR (107). Foi observado um aumento da expressão da enzima PAD e a acumulação de proteínas citrulinadas nos pulmões de fumadores crónicos na ausência de AR, sugerindo que o aumento da atividade da enzima PAD é uma potencial ligação fisiopatológica entre o tabagismo e o desenvolvimento de ACPA (107).

Um estudo, demonstrou que as proteínas citrulinadas estão aumentadas nas células do fluido de lavagem broncoalveolar de fumadores saudáveis em comparação com não fumadores saudáveis. Este facto foi associado a uma maior expressão da enzima PAD2, que está aumentada em doentes com AR. O mesmo nível de proteínas citrulinadas estava presente em amostras de biópsias da mucosa brônquica de fumadores e não fumadores saudáveis, apesar da maior expressão de PAD2 nos fumadores. Isto pode estar relacionado com a diferente fase de maturação dos macrófagos mucosos e alveolares induzida pelo tabagismo, uma vez que estudos anteriores demonstraram a ausência de PAD2 em monócitos em comparação com macrófagos maduros (108).

É importante notar que os anticorpos contra a enzima PAD4 são encontrados em aproximadamente 35% dos doentes com AR e estão associados ao anticorpo anti-péptido citrulinado cíclico (107). Acredita-se que esta relação possa estar associada à AR positiva para anticorpo anti-péptido citrulinado cíclico, de forma dose-dependente. O tabagismo vai induzir a expressão de vários anticorpos contra diferentes alvos (por exemplo, filagrina, vimentina e

colagénio), que são posteriormente citrulinados, e desenvolvem uma resposta imunitária que desencadeia um processo inflamatório perpétuo, comum nas doenças autoimunes, crónicas e na fibrose pulmonar (107-108).

Como já foi referido, o tabagismo tem sido associado à citrulinização de antigénios e à formação de ACPAs na AR, uma vez que o tabaco pode modificar as proteínas por carbamilação (formação de homocitrulina). De modo a verificar este fenómeno, foi realizado um estudo utilizando a vimentina (109). A vimentina, é uma das proteínas de filamentos intermédios de mamíferos mais amplamente expressas. Com este estudo foi possível verificar que, embora a prevalência de anticorpos anti-proteínas carbamiladas em fumadores e não fumadores fosse semelhante, o nível de anticorpos carbamilados estava significativamente aumentado nos doentes que eram fumadores em comparação com os de não fumadores. Assim, foi possível comprovar que a carbamilação da vimentina é induzida pela exposição ao fumo do cigarro (109).

Adicionalmente, o consumo de tabaco está relacionado com o aumento da taxa metabólica de alguns fármacos, logo pode existir uma correlação com a resistência ao tratamento antirreumático, devido a interações farmacocinéticas ou farmacodinâmicas. Por isso, os doentes com AR devem evitar consumir tabaco, não só para a sua saúde, mas também para um melhor resultado clínico (98,110).

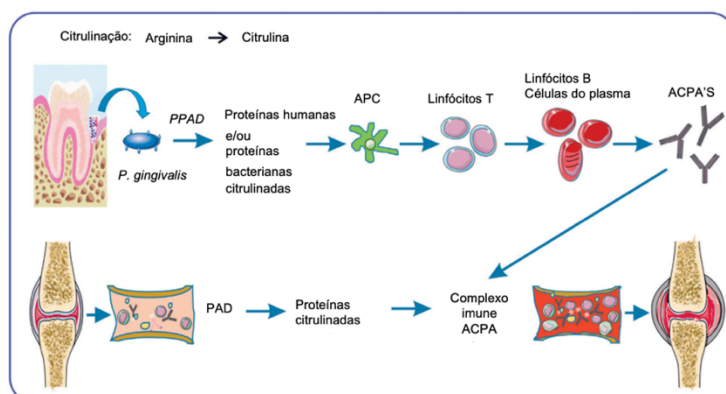
#### **4.2.8 Periodontite**

A periodontite (DP) é uma doença inflamatória crónica caracterizada pela destruição do ligamento periodontal e do osso alveolar, que se não for tratada pode levar à perda de dentes. A periodontite é considerada uma das doenças inflamatórias crónicas não transmissíveis mais prevalentes. Todas as formas de doença periodontal de característica inflamatória estão associadas a uma inflamação crónica, em que existe uma acumulação de linfócitos B e T, monócitos e neutrófilos, que resulta na desestruturação do ligamento periodontal e do osso. Vários fatores de risco estão associados ao desenvolvimento de DP, mas acredita-se que o *Porphyromonas gingivalis*, um anaeróbio Gram-negativo de pigmentação negra, seja o mais importante (111-112).

A possível associação entre a AR e a DP tem sido investigada devido a algumas semelhanças nas suas características patológicas e imunológicas, incluindo: (I) aumento da infiltração de células inflamatórias e imunes, incluindo neutrófilos, monócitos e linfócitos T e B; (II) aumento da expressão de mediadores pró-inflamatórios, como o TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e as MMPs, (III) aumento da ativação RANKL (113). O aumento do TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-11

e IL-17 pode induzir a osteoclastogênese, através do aumento da expressão do RANKL e da redução da produção da OPG em osteoblastos e em células do estroma, um mecanismo que é semelhante em ambas doenças (113).

O ponto de ligação entre estas patologias foi a descoberta e caracterização de uma enzima que é expressa exclusivamente pelo agente patogénico periodontal primário *Porphyromonas gingivalis*, a peptidilarginina desaminase de *P. gingivalis* (PPAD) (Figura 4.7). Acredita-se que a citrulinização de proteínas mediada pela PPAD em locais periodontais inflamados, pode iniciar uma cascata de eventos que culminam na produção dos ACPAs e, eventualmente, representar um risco para o desenvolvimento da AR (112). O *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) é outro agente patogénico da cavidade oral que se supõe ter implicações na patogénese da AR (103). Entre as espécies microbianas associadas à doença periodontal, foi demonstrado que o Aa tem a capacidade de reproduzir o repertório de antígenos citrulinados, que estão presentes nas articulações da AR. Isto é relevante para a patogénese da AR porque o padrão de hipercitrulinização no microambiente periodontal é semelhante ao da sinóvia da AR (103,114).



**Figura 4.7-**Potenciais ligações entre a Artrite Reumatóide e a Periodontite (Adaptado de (115)).  
**Abreviaturas:** APC, Célula apresentadora de antígeno; ACPA, Anticorpos anti-proteína citrulinada;  
 PAD, Peptidilarginina desaminase; PPAD, Peptidilarginina desaminase de *P. gingivalis*.

#### 4.2.9 Microbiota Intestinal

Os seres humanos são um dos ecossistemas microbianos mais complexos do planeta, com mais de 100 triliões de bactérias, principalmente no intestino distal. A microbiota intestinal é essencial para manter a homeostase imunitária, por isso a perturbação deste equilíbrio pode alterar as respostas imunitárias adaptativas locais e originar uma inflamação sistémica (116). A perturbação da microbiota intestinal pode desencadear a ativação de células imunitárias inatas, o que leva à regulação positiva de citocinas pró-inflamatórias, incluindo a IL-12, a IL-23 e os interferões de tipo I, bem como à redução de citocinas anti-inflamatórias, incluindo o fator de

crescimento transformador  $\beta$  e a IL-10 (116). Os agentes microbianos podem desencadear a diferenciação de vários subtipos de linfócitos T com propriedades inflamatórias, através dos linfócitos T CD4<sup>+</sup> pelas células dendríticas e macrófagos. Além disso, a perturbação da microbiota intestinal pode também desencadear a migração de células autorreativas para as articulações, causando inflamação local (116). Estima-se que o desequilíbrio da microbiota intestinal possa estar relacionado com a regulação da função imunitária pela formação de metabolitos produzidos pelos microrganismos intestinais, que podem desencadear uma resposta imunitária e funcionar como um gatilho para o desenvolvimento da AR (117).

Um dos agentes patogénicos mais estudados no contexto da disbiose intestinal é a *Prevotella copri*. Está evidenciando que existe uma proteína específica da *P. copri*, que está presente em células de doentes com AR. A presença desta proteína, também está associada a um aumento de citocinas pró-inflamatórias das vias Th1 e Th17. Neste sentido, a presença desta bactéria pode constituir um fator de risco, visto que, a mesma pode desencadear mecanismos semelhantes aos mecanismos patogénicos da AR (118).

Um estudo de Alpizar-Rodriguez *et.al.*, veio a comprovar que pessoas com risco de desenvolver AR (presença de sintomas e autoimunidade sistémica), apresentavam valores de *Prevotellaceae*, particularmente, *Prevotella spp.* (várias espécies) superiores, influenciando assim o estado da sua microbiota, quando comparados com controlos. Isto reforça a teoria que a disbiose intestinal, pode atuar como um modulador ambiental precoce e pode ser um alvo de futuras intervenções preventivas em indivíduos em risco de AR, antes do início da doença (119).

Outros agentes importantes são os lactobacilos, um dos géneros de probióticos mais comuns e importantes no intestino, que desempenham um papel importante na sua manutenção e regulação da homeostasia da microflora intestinal (120). O papel destes agentes ainda é desconhecido e controverso, tanto por exibirem funções indutoras como inibidoras da progressão da doença. Por exemplo, *Lactobacillus casei* e *L. delbrueckii* demonstraram atenuar o inchaço e a inflamação das articulações em modelos de animais (121). No entanto, várias espécies de lactobacilos demonstraram ser um fator de risco no início da doença, sendo esta hipótese é sustentada pela indução de AR em ratinhos depois da administração de *L. casei* (120-121).

#### 4.2.10. Sílica

A sílica ou óxido de silício é geralmente encontrada na natureza como quartzo, sendo um componente básico do solo, granito, areia e vários minerais. A sílica existe em muitas formas cristalinas (polimorfos). A exposição à sílica cristalina respirável (<10 µm de tamanho) ocorre frequentemente em ambientes ocupacionais, onde os materiais que contêm sílica cristalina são reduzidos a poeira. Existem dois tipos de sílica: a sílica orgânica e a sílica inorgânica. A exposição profissional à sílica inorgânica ocorre num grande número de indústrias e ambientes, tais como minas, pedreiras e produção de granito, indústrias de cerâmica e olaria, produção de aço, construção de túneis e muitas outras (122-123).

As partículas de sílica podem ser reconhecidas pelas APCs e conduzir à ativação de inflamassomas como mecanismo de defesa do organismo. Os inflamassomas são recetores e sensores do sistema imunitário inato, que regulam a ativação da caspase-1 e induzem a inflamação em resposta a organismos externos e a moléculas derivadas de proteínas do hospedeiro. Estes induzem a secreção de IL-1 $\beta$  e IL-18, que são citocinas pró-inflamatórias. Contudo, é necessário compreender a interação entre as diferentes células do sistema imunológico e as partículas de sílica que se encontram nos tecidos pulmonares e nos gânglios linfáticos, a fim de elucidar os mecanismos celulares e moleculares subjacentes às modificações na tolerância imunológica (124-125).

Numerosos estudos epidemiológicos e meta-análises relataram uma conexão positiva entre a exposição ocupacional à sílica e o aumento do risco da AR (126-128).

#### 4.2.11. Álcool

O etanol constitui o principal componente psicoativo de bebidas alcoólicas. O consumo excessivo de álcool é um problema comum tanto do ponto de vista social quanto de saúde, devido à sua toxicidade para o sistema nervoso central e para o fígado (129). O álcool é metabolizado no interior das células através da ação de duas enzimas: a álcool desidrogenase e a aldeído desidrogenase. Estas enzimas desempenham um papel crucial na quebra da molécula de etanol, facilitando a sua eliminação do organismo (129). A álcool desidrogenase converte o álcool em acetaldeído, uma substância altamente tóxica e reconhecida como cancerígena. Posteriormente, o acetaldeído é transformado em acetato (130). O acetato também é produzido pela microbiota intestinal através da fermentação de dietas ricas em fibras e exhibe propriedades imunomoduladoras. Por outro lado, é reconhecido que o consumo moderado de álcool detém efeitos reguladores ao nível do sistema imunitário e propriedades anti-inflamatórias (129-130).

Diversos estudos epidemiológicos onde demonstram que, o consumo moderado de álcool exerce um efeito inibitório sobre a AR. Ainda assim, o mecanismo subjacente pelo qual o álcool atenua a AR ainda não é completamente conhecido (131-135).

#### **4.2.12 Fatores Socioeconômicos**

O estatuto socioeconômico pode ser medido de várias formas (por exemplo, educação, profissão, rendimento do agregado familiar, etnia), e tem sido associado a um risco acrescido de AR e a um pior resultado da doença (136). A situação socioeconômica nos desfechos de saúde é amplamente reconhecida, podendo manifestar-se por meio de comportamentos individuais, acesso aos serviços de saúde e fatores mais abrangentes, como a educação, emprego e habitação (137). A disparidade socioeconômica abrange uma série de fatores que podem ser alvos de intervenção, abrangendo aspetos que envolvem os provedores de serviços de saúde, comportamentos e preconceitos entre os profissionais de saúde, bem como sistemas e estruturas institucionais que contribuem para a desigualdade. As recentes crises de saúde em todo o mundo destacaram a importância e a natureza multifacetada das desigualdades socioeconômicas e o seu impacto na prestação de cuidados de saúde (137).

Os doentes com AR enfrentam um risco de mortalidade até três vezes superior comparativamente à população em geral, e esse risco é em grande parte atribuído a comorbidades extra-articulares (138). Portanto, o impacto do status socioeconômico nas comorbidades relacionadas à AR é clinicamente significativo. Estudos sobre a relação entre a AR e o *status* socioeconômico têm consistentemente demonstrado que um nível socioeconômico mais baixo, está associado a um risco aumentado de desenvolver AR, alta atividade da doença, deficiência funcional e mortalidade (138-139).

#### **4.2.13. Dieta**

Os hábitos alimentares desempenham um papel crucial na saúde e podem atuar tanto como fatores de risco quanto de proteção para o desenvolvimento da AR, dependendo das propriedades dos alimentos específicos. Certas escolhas alimentares podem ter efeitos pró-inflamatórios, como o consumo de carne vermelha, sal e ingestão calórica excessiva, ou, inversamente, podem contribuir para a redução da inflamação, como é o caso de óleos saudáveis, peixe gordo, frutas, legumes, entre outros, representado no Quadro 4.4. Por exemplo, a elevada ingestão de cloreto de sódio (sal) na dieta, comum nos países ocidentais, tem sido associada a um aumento do risco de AR. O azeite, por exemplo, contém tocoferóis que atuam

como neutralizadores de radicais livres. Apesar de os legumes, em geral, serem ricos em antioxidantes e apresentarem efeitos anti-inflamatórios, alguns, como batatas, tomates e beringelas, foram associados a um aumento no risco de AR (140-141).

Uma dieta mediterrânea é caracterizada pelo consumo abundante de frutas, legumes, cereais integrais, peixe e azeite, e com reduzida ingestão de carne vermelha, e uma quantidade moderada de álcool. Vários ensaios clínicos fornecem evidências robustas de que essa abordagem dietética resulta em efeitos positivos na inflamação e na função física em doentes com AR, quando comparada a uma dieta ocidental (142-144).

No que diz respeito às gorduras, diversos estudos destacaram os efeitos pró-inflamatórios dos ácidos gordos trans, associando-os ao aumento dos níveis de TNF- $\alpha$ , IL-1, PCR e disfunção endotelial vascular (140). Em contrapartida, os ácidos gordos polinsaturados (PUFA)  $\omega$ -3, principalmente encontrados em óleos de peixe, demonstraram uma correlação inversa com os níveis de IL-6, metaloproteinases de matriz 3 e PCR (140).

**Quadro 4.4**-Influência dos fatores dietéticos na atividade da Artrite Reumatóide (Adaptado de (145)).

Fatores que diminuem a atividade da AR	Fatores que aumentam a atividade da AR
<i>Bacillus coagulans</i> e/ou inulina Óleos de peixe/marinhos ricos em os ácidos gordos polinsaturados N-3 (ácido eicosapentaenóico e docosahexaenóico) isolados ou em conjunto com ácido $\gamma$ -linolênico e/ou com vitamina D Ácidos gordos monoinsaturados Dieta mediterrânica Dieta pobre em sódio Dieta pobre em magnésio Frutos, legumes e especiarias ricos em polifenóis	Obesidade Dieta rica em gorduras Bebidas açucaradas e doces

Outra substância que apresenta um papel controverso é o café, que representa um efeito protetor para algumas doenças cardiovasculares e diabetes, ao mesmo tempo que aumenta o seu risco. O seu efeito na AR ainda não está completamente esclarecido (146).

O café é uma das bebidas mais consumidas no nosso dia a dia. A cafeína é a molécula psicoativa mais comumente ingerida. A cafeína também tem sido associada à modificação na produção de moléculas de sinalização celular (146). Acredita-se que o café tenha um efeito protetor contra o desenvolvimento e a progressão da AR, pela redução da ativação dos linfócitos T e da proliferação dos linfócitos B, bem como pela diminuição da libertação do TNF- $\alpha$  e aumento da libertação da IL-10, uma citocina anti-inflamatória. Adicionalmente, a cafeína

diminui a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-2 e o IFN- $\gamma$ , citocinas essas que desempenham um papel central no desenvolvimento e propagação de doenças autoimunes (146-147).

Muitos estudos, verificaram que um maior consumo de café e de café descafeinado estava associado a um maior risco de AR. Porém não foi observada uma associação significativa entre a ingestão de café com cafeína, ou cafeína e o risco de AR (148-149).

## **5. Critérios de classificação da AR**

Os critérios de classificação têm como objetivo facilitar a comunicação e a investigação científica. Servem, portanto, como uma ferramenta para chegar a grupos homogêneos de doentes com características comparáveis possibilitando a comparação de dados obtidos por diferentes investigadores e médicos, em diferentes locais. É desejável que esses critérios tenham uma especificidade elevada, de modo a evitar a inclusão de indivíduos que não possuam a doença em questão (150).

Em 1987, o Colégio Americano de Reumatologia (ACR) estabeleceu critérios de classificação para a AR com o objetivo de melhorar a uniformidade do diagnóstico dos doentes que participavam em ensaios clínicos (151). Ao longo do tempo, esses critérios tornaram-se cada vez mais utilizados na prática clínica para o diagnóstico da AR. No entanto, os critérios ACR de 1987 apresentam uma precisão diagnóstica limitada na deteção precoce da AR em estágios iniciais. A título de exemplo são as alterações radiográficas, incluindo a erosão óssea e a osteopenia periarticular, que constituem um dos sete critérios, não estando, porém presentes nos doentes com as fases mais precoces da doença. Nos últimos anos, os ACPA foram identificados como tendo uma maior especificidade, em comparação com o FR, mas uma sensibilidade semelhante, no diagnóstico da AR (152-153). Com o intuito de aprimorar a capacidade de diagnóstico precoce e incluir os ACPA, em 2010 foram desenvolvidos novos critérios de classificação da AR, nomeadamente os critérios ACR/EULAR (154). Estes novos critérios têm como objetivo identificar os indivíduos em risco de desenvolver inflamação persistente e/ou doença erosiva e, conseqüentemente, alcançar uma intervenção terapêutica precoce que possa prevenir, ou mesmo inibir, a progressão da doença (152-153).

### **5.1 Critérios de classificação da Associação Americana de Reumatologia de 1987**

Os critérios de classificação de 1987 avaliam 7 pontos (Quadro 5.1): 1) rigidez matinal nas articulações e à volta das mesmas com uma duração mínima de 1 hora; 2) inchaço dos tecidos moles (artrite) de 3 ou mais áreas articulares; 3) inchaço (artrite) das articulações interfalângicas proximais, metacarpofalângicas ou do punho; 4) edema simétrico e bilateral nas articulações interfalângicas proximais, metacarpofalângicas, ou metatarsofalângicas (artrite); 5) presença de nódulos reumatóides subcutâneos; 6) presença do fator reumatóide; 7) erosões radiográficas e/ou osteopenia periarticular nas articulações da mão e/ou do punho. Os critérios 1 a 4 devem estar presentes há pelo menos 6 semanas. A AR é definida pela presença de 4 ou

mais critérios, não sendo necessárias outras qualificações (clássica, definida ou provável) ou uma lista de exclusões (153).

**Quadro 5.1** - Os critérios revistos de 1987 para a classificação da AR da Associação Americana de Reumatologia (Adaptado de (151)).

<b>Critério</b>	<b>Classificação</b>
<b>1. Rigidez Matinal</b>	Rigidez matinal das articulações e do seu redor, com duração mínima de uma hora.
<b>2. Artrite <math>\geq 3</math> em zonas articulares</b>	Pelo menos três articulações simultaneamente apresentam edema nos tecidos moles ou acúmulo de fluido (não apenas crescimento ósseo excessivo). As 14 áreas possíveis incluem as articulações interfalângicas proximais, metacarpofalângicas, punhos, cotovelos, joelhos, tornozelos e metatarsofalângicas.
<b>3. Artrite nas articulações das mãos</b>	Pelo menos uma área afetada (conforme descrito anteriormente) nas articulações interfalângicas proximais, metacarpofalângicas ou dos punhos.
<b>4. Artrite simétrica</b>	Envolvimento simultâneo das mesmas áreas articulares (tal como definido em 2) em ambos os lados do corpo (o envolvimento bilateral das articulações interfalângicas proximais, metacarpofalângicas ou metatarsofalângicas).
<b>5. Nódulos reumatóides</b>	Nódulos subcutâneos, localizados sobre proeminências ósseas, ou superfícies extensoras, ou em regiões justa-articulares.
<b>6. Fator reumatóide sérico</b>	Presença de quantidades anormais de fator reumatóide sérico, com um resultado positivo em $\leq 4\%$ dos controlos normais.
<b>7. Alterações radiográficas</b>	Alterações radiográficas compatíveis com a AR em radiografias posteroanteriores da mão e do pulso, que devem incluir erosões ou descalcificações ósseas inequívocas localizadas nas articulações afetadas ou predominantemente adjacentes a elas.

## **5.2 Critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia/Liga Europeia das Associações de Reumatologia de 2010**

Os critérios de classificação da AR do ACR/EULAR de 2010 destinam-se a ser aplicados a doentes que apresentem 2 condições: um edema definitivo de pelo menos uma articulação através de um exame clínico e presença confirmada de sinovite em pelo menos uma articulação, na ausência de um diagnóstico alternativo que explique melhor a sinovite, como o lúpus eritematoso sistémico, gota, artrite psoriática, entre outros. Para além disso, é necessário a obtenção de uma pontuação total igual ou superior a 6 (de um total possível de 10) para que a AR seja diagnosticada. A pontuação abrange os 4 domínios (Quadro 5.2): número e local das

articulações envolvidas, anomalia serológica, resposta elevada da fase aguda e duração dos sintomas (154).

**Quadro 5.2** - Os critérios de classificação do ACR/EULAR de 2010 para a Artrite Reumatóide (Adaptado de (154)).

		<i>Pontos</i>
<b>A</b>	<b>Envolvimento e distribuição das articulações: 0-5 pontos</b>	
	1 Articulação grande (ombro, cotovelo, anca, joelho ou tornozelo)	0
	2-10 Articulações grandes	1
	1-3 pequenas articulações (a articulação metacarpofalângica, a articulação interfalângica proximal, a segunda e a quinta articulações metatarsofalângicas, a articulação interfalângica do polegar e o punho)	2
	4-10 pequenas articulações	3
>10 articulações (das quais $\geq 1$ é uma pequena articulação)	5	
<b>B</b>	<b>Serologia (é necessário pelo menos um resultado de um teste para a classificação): 0-3 pontos</b>	
	Fator Reumatóide negativo e anticorpo anti-proteína citrulinada negativo	0
	Presença do fator reumatóide positivo em baixa concentração ou a presença do anticorpo anti-proteína citrulinada positivo em baixa concentração	2
Presença do fator reumatóide positivo em altas concentrações ou a presença do anticorpo anti-proteína citrulinada positivo em altas concentrações	3	
<b>C</b>	<b>Proteínas de fase aguda (pelo menos um teste necessário para a classificação): 0-1 pontos</b>	
	Níveis normais da proteína C-reativa e velocidade de sedimentação (VS)	0
	Níveis anormais da proteína C-reativa ou VS	1
<b>D</b>	<b>Duração dos sintomas: 0-1 pontos</b>	
	<6 semanas	0
	$\geq 6$ semanas	1

Sendo assim, o intuito de criar novos critérios de classificação da AR foi a inclusão de doentes nas fases mais precoces da doença (a partir de 6 semanas), de modo a serem diagnosticados rapidamente e terem um acesso a uma terapêutica eficaz para evitar o desenvolvimento de danos estruturais (155).

Como já foi referido, a AR é uma doença com uma evolução heterogénea, em que a componente inflamatória advém de diversos mecanismos patológicos. A avaliação dos aspetos clínicos como sinais e sintomas, a deteção de biomarcadores, diagnóstico diferencial, a presença de complicações e manifestações extra-articulares são essenciais para a escolha do tratamento. Por isso, o diagnóstico precoce é importante para diferenciar os tipos de artrite de outras doenças autoimunes de modo a evitar complicações futuras (156-157).

## **6. Manifestações Clínicas**

### **6.1 Sinais e sintomas**

A maioria dos doentes que eventualmente desenvolvem AR atravessa uma fase sintomática prévia, que pode manifestar-se como artralgia, reumatismo palindrômico ou artrite não classificada, antes de uma condição passível de ser classificada como AR se estabelecer. A AR começa frequentemente de forma insidiosa, com o desenvolvimento lento de sinais e sintomas, de intensidade variável, ao longo de muitas semanas. Estes podem incluir rigidez numa ou mais articulações, mais acentuada de manhã, acompanhada de desconforto ao movimento e sensibilidade articular. A AR pode afetar qualquer articulação sinovial, no entanto, as pequenas articulações das mãos e dos pés são as mais comuns. A sinovite apresenta três principais características clínicas: dor (que piora nos momentos de repouso), inchaço à volta da articulação e por último, a rigidez das articulações (geralmente de manhã e com duração superior a uma hora). Outras características sistémicas que geralmente estão associadas a um quadro de AR são o mal-estar, fadiga, febre, suores e perda de peso sem causa aparente (158-160).

Também é possível observar outros padrões articulares menos usuais na apresentação da AR. Um deles é caracterizado por um início agudo, explosivo poliarticular, que pode se manifestar repentinamente, ao longo de um dia ou ao longo de vários dias com o aparecimento agudo de alguns sintomas, principalmente a dor. Outro padrão pode ser denominado como "palindrômico", em que os sintomas são transitórios e surgem em algumas articulações ao longo de dias ou semanas, desaparecendo temporariamente, apenas para reaparecerem mais tarde na mesma ou em outras articulações, tendendo a intensificar-se com o tempo. Nos doentes de idade mais avançada, a AR pode apresentar-se como uma polimialgia reumática que responde a corticosteroides ou também como uma artrite de característica periférica e simétrica, sendo a manifestação mais típica da AR, que só consegue ser identificada quando a dose de corticosteroides é reduzida (159).

### **6.2 Manifestação extra-articulares**

A AR é uma doença autoimune sistémica cuja principal característica é a inflamação persistente das articulações, que afeta múltiplos tecidos e órgãos do corpo, em especial as articulações sinoviais e os tecidos peri-articulares. Esta inflamação está associada a uma dor significativa, incapacidade funcional e condições de saúde comórbidas. O estado inflamatório crónico da AR pode levar a manifestações extra-articulares, tais como nódulos reumatóides e

## Novas abordagens terapêuticas para o tratamento da Artrite Reumatóide

vasculite, bem como a doenças cardiovasculares, pulmonares, condições neurológicas, gastrointestinais, renais e hematológicas. Os nódulos reumatóides são a manifestação extra-articular mais comum, estando presente em cerca de 30% dos doentes. A síndrome de jögren secundária e manifestações pulmonares são observadas em quase 10% dos doentes, também no início da doença (Quadro 6.1) (161-162).

**Quadro 6.1-** Exemplos de manifestações extra-articulares na AR. (Adaptado de (161-171))

Manifestações Clínicas		
<b>Pele</b>	Nódulos Reumatóides	Os nódulos reumatóides são as manifestações cutâneas mais frequentes e ocorrem principalmente em doentes com RF positivo.
	Vasculite de pequenos vasos	A vasculite é uma manifestação rara da AR que afeta vasos de pequeno e médio porte de vários sistemas de órgãos. É mais frequente a nível da pele (púrpura, isquemia digital, livedo reticular, etc), e aparece sobretudo nas extremidades inferiores.
<b>Pulmonar</b>	Pleurite	A pleurite é comum, mas geralmente assintomática. Vários resultados de autópsias relataram envolvimento pleural em 50% dos casos, em que apenas 10% foram detetados clinicamente.
	Doença pulmonar intersticial	A doença pulmonar intersticial é a manifestação mais comum e grave a nível pulmonar, e está por vezes associada a nódulos reumatóides parenquimatosos.
	Nódulos Pulmonares	São geralmente assintomáticos e podem ser encontrados em doentes RF positivos. Estes nódulos podem migrar para outros locais e provocar derrames pleurais.
<b>Cardiovascular</b>	Aterosclerose	As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte de doentes com AR. Os doentes com AR apresentam um risco de 48% em comparação com a população em geral.
	Pericardite	A pericardite é a manifestação cardíaca mais comum na AR. Embora a pericardite sintomática seja relativamente pouco frequente, os estudos de autópsia revelaram evidência de inflamação pericárdica em 50% dos doentes.
<b>Ocular</b>	Síndrome de Sjögren Secundária (SS)	A Síndrome de Sjögren é uma doença imunomediada crónica que afeta as glândulas salivares e lacrimais, caracterizada pela xerostomia e xeroftalmia.
	Síndrome do olho seco (Ceratoconjuntivite seca)	Pode apresentar-se isoladamente ou no contexto da síndrome de Sjögren secundária.
	Epiesclerite	Caracterizada por uma inflamação da camada superficial da esclera, e é geralmente uma condição autolimitada. Frequência inferior a 1%.
	Queratite ulcerativa periférica	Desenvolve-se como uma extensão da inflamação da esclera com envolvimento da córnea periférica e pode levar à fusão da córnea.
<b>Neurológica</b>	Neuropatia periférica	Apresenta-se normalmente como parestesia, dormência e desconforto nas mãos e nos pés. O envolvimento do sistema nervoso periférico é um indicador precoce da generalização da doença inflamatória. A neuropatia mais comum é a síndrome do túnel cárpico.
	Mielopatia cervical	Provocada por subluxação atlanto-axial ou pela formação de <i>pannus</i> , ocorre frequentemente, em doentes com AR com doença grave e de longa duração.
<b>Hematológica</b>	Anemia e anemia crónica	A manifestação mais comum e mais frequente. Está relacionada com o grau de inflamação das articulações e a atividade da doença.
	Síndrome de Felty	Uma manifestação extra-articular rara de AR soropositiva caracterizada por neutropenia, trombocitopenia e esplenomegalia, levando a infeções graves e recorrentes, especialmente ao nível da pele e do sistema respiratório.
	Linfoma não Hodgkin	Apesar de ser raro, os doentes com AR têm um maior risco de desenvolver linfoma de não Hodgkin do que a população em geral.
<b>Metabólica/ Sistema endócrino</b>	Osteoporose	A osteoporose pode ser encontrada em 30-50% dos doentes com AR, dependendo da idade e do sexo, sendo que a prevalência e o risco de fratura aumentam com a duração da doença e a seropositividade.
	Diabetes <i>mellitus</i> induzida por corticosteróides	O uso de corticosteróides pode levar à hiperglicemia e à resistência à insulina, apesar das suas potentes propriedades anti-inflamatórias.
<b>Renal</b>	Glomerulonefrite	O envolvimento renal é raro. A glomerulonefrite ocorre em cerca de 60% dos casos de envolvimento renal.
	Amiloidose secundária	O desenvolvimento da amiloidose está relacionado com a duração da doença. É diagnosticada em 25% dos doentes.

**Abreviaturas:**AR, Artrite Reumatóide; FR, Fator Reumatóide.

## 7. Terapia

A AR é uma doença de carácter heterogéneo, com uma fisiopatologia complexa e ainda não totalmente compreendida, em que diversos tipos de células contribuem para o processo destrutivo e inflamatório das articulações. A complexidade da AR resulta numa variabilidade considerável entre doentes, relativamente à evolução clínica e à gravidade da doença (172).

O objetivo da terapêutica na AR centra-se em melhorar a qualidade de vida dos doentes, reduzir o risco de manifestações extra-articulares, estabilizar a doença e alcançar remissão. Segundo o ACR, a abordagem que deve ser estabelecida aquando do início do tratamento deve ser "*Treat to target*" (T2T). Esta abordagem tem como fundamento, a escolha de um tratamento de forma a alcançar a remissão ou diminuição da atividade da doença, pela escolha do melhor fármaco para cada doente, com o acompanhamento de médicos especialistas (173). O princípio T2T pode variar consoante os objetivos de tratamento do doente e do médico, tendo sempre em conta os resultados individualizados que podem ser alcançados. Estes objetivos variam consoante a gravidade da doença, sendo que o objetivo principal é alcançar a remissão, mas pode também incluir a prevenção de lesões articulares, redução da atividade da doença, da incapacidade, redução da mortalidade e incidência de eventos cardiovasculares (172-173).

De forma a obter um melhor resultado, a intervenção terapêutica deve ser agressiva e rápida porque as erosões existentes não são reversíveis e para isso, é necessário um diagnóstico precoce e a implementação de uma terapêutica adequada, com revisão regular da medicação. Posto isto, a abordagem deve ser multidisciplinar, onde estratégias de prevenção, diminuição de comportamentos de risco, terapias não-farmacológicas e farmacológicas devem ser incluídas e identificadas (172-173).

Segundo as diretrizes ACR de 2010, os profissionais de saúde devem adotar a abordagem T2T, de forma a alcançar sucesso terapêutico (150). Por isso, foi necessário encontrar ferramentas que pudessem auxiliar os médicos na medição da gravidade da doença. No entanto, embora a gravidade de algumas doenças crónicas, como a diabetes *mellitus* ou a hipertensão, possa ser medida diretamente, não existe uma medida equivalente na AR. Assim, o ACR recomenda 6 medidas de atividade da doença da AR, que também podem ser utilizadas como medidoras da resposta ao tratamento, tais como, o Índice de Atividade Clínica da Doença (CDAI), a Pontuação de Atividade da Doença em 28 articulações (DAS28), a Escala de Atividade do Doente (PAS), a Escala de Atividade do Doente II (PAS-II), a Avaliação de Rotina dos Dados do Índice do Doente 3 (RAPID3) e o Índice Simplificado de Atividade da Doença (SDAI) (174). Na prática clínica, em particular na moderna abordagem T2T, a monitorização

da atividade da doença e da resposta ao tratamento na AR é normalmente efetuada utilizando a DAS28 (remissão é uma pontuação de  $<2,6$  e baixa atividade da doença é  $\leq 3,2$ ) (175). O DAS28 deriva de medidas objetivas avaliadas pelo médico, ou seja, a contagem de articulações inchadas, a resposta da fase aguda (VS ou os níveis de PCR), e as medidas relatadas pelo doente, contagens de articulações sensíveis e uma avaliação da saúde global, que são avaliadas através de uma escala visual analógica de atividade da doença (175).

Atualmente, ainda não existe uma cura para a AR apesar da melhoria contínua dos procedimentos e das estratégias na procura de novos medicamentos. Porém, devido aos recentes avanços na terapia farmacológica, os resultados da AR melhoraram drasticamente e a remissão é agora possível para muitos doentes. Neste sentido, as novas opções terapêuticas conseguiram reduzir os sintomas, abrandar a progressão e prevenir complicações. De acordo com as recomendações do ACR e da EULAR, as opções de tratamento respeitam duas componentes: a primeira componente diz respeito ao tratamento dos sintomas, principalmente a dor, recorrendo a fármacos com propriedades analgésicas e anti-inflamatórias como AINEs e GC. Os analgésicos opioides fracos também podem ser considerados para a gestão da dor a curto prazo, após uma avaliação da relação benefício-risco. A outra componente corresponde à supressão da atividade autoimune e do atraso ou prevenção da degeneração articular através da utilização dos DMARDs. Os DMARDs estão divididos em três classes, podendo ser classificados como DMARDs sintéticos convencionais (csDMARDs), DMARDs biológicos (bDMARDs) e os DMARDs sintéticos direcionados (tsDMARDs). Os csDMARDs são normalmente utilizados como terapêutica de primeira linha para doentes com AR recentemente diagnosticada (10).

### **7.1 Terapia Não Farmacológica**

A terapia não-farmacológica consiste principalmente em intervenções físicas e de reabilitação, que visam reduzir o impacto da AR e das suas comorbilidades relacionadas, como a osteoporose e doenças cardiovasculares. Estas intervenções englobam a educação terapêutica do doente, o exercício físico, a aplicação de intervenções dietéticas e suplementação, os probióticos e a balneoterapia. (176)

### **7.1.1 Educação para o doente**

A educação do doente constitui um processo de aprendizagem interativo, com o intuito de apoiar e permitir aos doentes uma melhor gestão do seu estado de saúde, de forma a otimizar a sua saúde e o bem-estar. E por isso, o seu principal objetivo é produzir um efeito terapêutico como adjuvante às intervenções instituídas. Neste sentido, a educação do doente é uma ferramenta muito importante na abordagem da doença, pois permite que os mesmos adquiram conhecimento sobre a sua doença como também, sobre o tratamento e medidas de prevenção. Com isto, o doente passa a adquirir comportamentos que protegem as articulações, ao estabelecer alterações no seu estilo de vida (dieta, programas de atividade física, perda de hábitos tabágicos, etc.), e também aprende a gerir a sua doença e os problemas associados, com o apoio dos familiares e profissionais de saúde (176).

Uma limitação da aplicação destes programas é a heterogeneidade clínica dos doentes, pois cada doente apresenta necessidades educativas diferentes, o que requer que estes programas sejam adaptadas a cada indivíduo (176).

### **7.1.2 Exercício físico**

É importante que os doentes com AR sejam encorajados a praticar atividade física regular, não só para melhorar os resultados relacionados com a doença, mas também minimizar o risco acrescido de comorbilidades como as doenças cardiovasculares, a sarcopenia reumatóide (perda acelerada de massa muscular esquelética) e a osteoporose (176-177). A inatividade física é comum nos doentes com AR e tem sido associada a um risco cardiovascular acrescido, bem como de perda muscular e óssea. Como tal, está comprovado que hábitos de exercício físico regulares exercem efeitos cardiovasculares benéficos em doentes com AR (178). Para além disso, foi demonstrado que o exercício reduz a inflamação a longo prazo e contribui para melhorias na função microvascular e macrovascular após 3 meses de atividade (179).

### **7.1.3 Dieta e suplementação**

Tendo por base a evidência existente relacionada com a alteração da microbiota intestinal em doentes com AR, a patogénese e as suas implicações na progressão da doença, intervenções dietéticas devem ser encorajadas. Existem potenciais mecanismos através da alimentação que podem ter impacto na AR, através da melhoria do stress oxidativo, redução da produção de citocinas inflamatórias e alteração da microbiota intestinal (180). Reconhece-se que os antioxidantes presentes nas frutas e nos legumes ajudam a reduzir os níveis de stress

oxidativo e têm uma ação protetora contra o desenvolvimento de radicais livres, prevenindo a inflamação. Além disso, o stress oxidativo pode estar associado a biomarcadores inflamatórios específicos, como a PCR e o TNF- $\alpha$ , em pessoas com AR. (180). Vários estudos demonstraram que a dieta mediterrânea teve um impacto significativo na redução dos biomarcadores inflamatórios, incluindo a PCR, a VS e a IL-6 (180-182). A dieta mediterrânea é reconhecida como uma dieta anti-inflamatória e tem sido associada a vários benefícios para a saúde. Esta dieta consiste maioritariamente em alimentos de origem vegetal, incluindo cereais não refinados, leguminosas, frutos secos, frutas e legumes, azeite virgem extra como principal fonte de gordura, produtos lácteos e ovos e um baixo consumo (mensal) de carne vermelha e doces (181). Portanto, a dieta mediterrânea é rica em fibras, polifenóis, ácido fólico, vitaminas antioxidantes C, A e E (182).

Estes elementos podem desempenhar um papel anti-inflamatório significativo, interrompendo a cascata do ácido araquidónico, a atividade das células imunitárias e a expressão de genes pró-inflamatórios. Além disso, foi demonstrado que os PUFAs ómega-3 encontrados no peixe influenciam as funções dos linfócitos e monócitos, que são vitais para a capacidade do sistema imunitário e também estão envolvidos na regulação das vias inflamatórias nas doenças inflamatórias crónicas (180).

Por conseguinte, existem evidências que o uso de suplementação de ómega-3 é benéfico para a redução da inflamação na AR, sendo um dos suplementos mais estudados na AR (180). Os ácidos gordos polinsaturados ómega-3 incluem, o ácido eicosapentaenóico e o ácido docosahexaenóico, que derivam principalmente de peixes gordos e de suplementos de óleo de peixe. Os PUFAs ómega-3 regulam as vias de sinalização dos anti-oxidantes e alteram as vias inflamatórias competindo com os PUFAs ómega-6 que são transformados em eicosanóides pró-inflamatórios (180).

Numa revisão sistemática publicada por *Gioxari et. al.*, foi demonstrado que a suplementação com PUFAs ómega-3 conduziu a melhorias substanciais na duração da rigidez matinal precoce, nos níveis de dor, na VS, na função física e na sensibilidade articular (183). Dada a evidência que relaciona a inflamação com a progressão da doença, os PUFAs ómega-3 desempenham um papel significativo através da modulação dos processos e vias inflamatórias (183).

#### **7.1.4 Probióticos**

Em 2002, a Organização Mundial de Saúde, definiu os probióticos como "*organismos vivos presentes em alimentos e suplementos dietéticos que, após ingestão, podem melhorar a*

*saúde do hospedeiro para além do seu conteúdo nutricional básico inerente"* (184). Em comparação com pessoas saudáveis, os doentes com doenças inflamatórias crónicas, em particular AR e espondiloartrite, têm uma microbiota intestinal alterada, designada por disbiose, com uma permeabilidade aumentada que permite que os antigénios ou bactérias luminiais interajam mais facilmente com o sistema imunitário do hospedeiro (184). Neste sentido, a inflamação intestinal está relacionada com uma inflamação sistémica que pode desencadear o desenvolvimento de algumas doenças autoimunes e contribuir para a sua gravidade (184).

Foram investigadas várias estirpes diferentes de *Lactobacillus* e *Bifidobacteria*, como espécies individuais ou em culturas mistas, e algumas demonstraram efeitos benéficos na atividade da doença em seres humanos com AR (184). Atualmente, a bactéria probiótica *L. casei* parece ser a candidata mais forte para aplicação como terapia adjuvante em doentes com AR (185). Alguns estudos imunológicos revelaram que, os probióticos têm efeitos imunomoduladores consoante a dose, afetando a regulação de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (184).

Porém, a recomendação de uso de probióticos no controlo da AR ainda não é suficientemente robusta, sendo necessários mais estudos para determinar a eficácia e a dose ideal (186).

### **7.1.5 Hidroterapia**

O termo "hidroterapia" ou "fisioterapia no meio aquático" é definido como exercício em água quente sob supervisão, utilizando a flutuabilidade, assistência e resistência da água morna ou a temperatura ambiente para aliviar a dor, induzir o relaxamento muscular e promover um exercício mais eficaz. Numa revisão sistemática por Al-Qubaeissy *et. al.*, foi demonstrado que doentes que praticaram este tipo de atividades, obtiveram alguns efeitos benéficos na melhoria do seu estado de saúde (por exemplo, redução dos valores da dor), quando comparados com grupos de controlo. No entanto, os benefícios a longo prazo foram considerados inconclusivos (187).

Noutro estudo publicado por Siqueira *et. al.*, foi demonstrado, os exercícios aquáticos proporcionaram uma melhoria significativa na redução da atividade da doença, da dor e da capacidade funcional. Porém, não foram demonstradas melhorias significativas na força muscular nem alteração na composição corporal (188).

## 7.2 Terapia Farmacológica

### 7.2.1 Anti-inflamatórios não-esteroides

A abordagem terapêutica da inflamação compreende dois objetivos primários, o alívio dos sintomas e a manutenção da função, que são geralmente as principais queixas do doente, e a mitigação ou a paragem do processo de lesão tecidual. Os AINEs inibem as isoformas das enzimas COX-1 (cicloxygenase) e COX-2 em graus variáveis, sendo que alguns são seletivos da COX-2 (coxibs). No entanto, a maioria dos AINEs são inibidores competitivos, não competitivos ou mistos reversíveis das enzimas COX, com a exceção do ácido acetilsalicílico, que se liga covalentemente às subunidades catalíticas dos dímeros da COX-1 e da COX-2, inibindo irreversivelmente a atividade da enzima. A atividade anti-inflamatória dos AINEs é mediada principalmente pela inibição da biossíntese das prostaglandinas (PGs), que representa uma pequena parte da cascata inflamatória. A primeira enzima na via de síntese das PGs é a COX, também conhecida como prostaglandina H sintase. Esta enzima converte o ácido araquidônico em dois intermediários instáveis, a prostaglandina G2 e a prostaglandina H2, o que leva à produção de prostanóides, tromboxano A2 e uma variedade de PGs com diversas funções fisiológicas (Figura 7.1) (189-191).

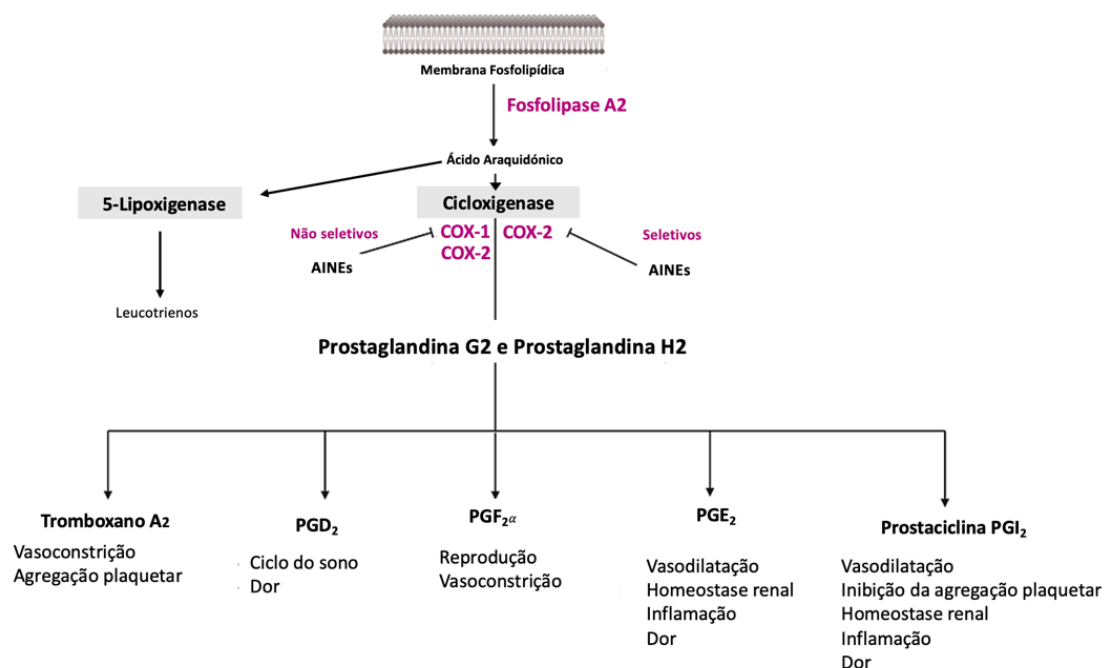


Figura 7.1- Mecanismo de ação dos AINEs (Adaptado de (194)).

Abreviaturas: AINEs, Anti-inflamatórios não esteróides; COX, Cicloxigenase; PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, Prostaciclina.

A COX-1 é uma enzima constitutiva que regula processos celulares normais, tais como a citoproteção gástrica, a homeostasia vascular, a agregação plaquetária e funções reprodutivas e renais. Já a COX-2 é expressa constitutivamente no cérebro, no rim e no osso, a sua expressão noutros locais é aumentada durante estados de inflamação. Além disso, a expressão da COX-2 é induzida por mediadores inflamatórios como TNF- $\alpha$  e IL-1, mas também pode ser inibida farmacologicamente por glucocorticoides (192).

Para além das propriedades anti-inflamatórias, os AINEs possuem propriedades analgésicas e antipiréticas, que derivam principalmente da inibição da COX-2 e da consequente diminuição das prostaglandinas pró-inflamatórias E2 e I2 (prostaciclina), enquanto as complicações gastrointestinais (por exemplo, hemorragias ou perfuração gástrica ou duodenal) derivam principalmente da inibição da COX-1 e da consequente inibição das prostaglandinas protetoras gastrointestinais E2 e I2 (191).

No entanto, estes fármacos não retardam a progressão da doença nem previnem as erosões ósseas ou a deformidade articular e por isso não devem ser utilizados em monoterapia no tratamento da AR. Neste sentido, estes fármacos representam uma opção, relativamente segura, no alívio dos sintomas, por terem uma ação terapêutica mais rápida do que os DMARDs (189).

Contudo, os efeitos terapêuticos e adversos dos AINEs devem-se à inibição da COX, efeitos estes que afetam principalmente a mucosa gástrica (cerca de 40%), o sistema renal, o sistema cardiovascular, o sistema hepático e o sistema hematológico. Os efeitos adversos gastrointestinais (diarreia, dor abdominal, náuseas, dispepsia, úlceras) devem-se à inibição da COX-1, nas células epiteliais gástricas e intestinais, que leva à diminuição da produção de prostaglandinas citoprotetoras da mucosa, especialmente a PGI2 e a PGE2. Desse modo, os inibidores seletivos da COX-2 apresentam uma melhor tolerabilidade gastrointestinal, mas estão associados a um risco acrescido de eventos cardiovasculares, possivelmente devido à diminuição da produção da prostaciclina. O risco aumentado de eventos cardiovasculares, incluindo enfarte do miocárdio e acidente vascular cerebral, tem sido associado a todos os AINEs, exceto ao ácido acetilsalicílico (189,192).

Existem vários fármacos inseridos nesta classe e podem ser administrados por diversas vias e formas farmacêuticas, mas os mais usados no tratamento da AR são o ácido acetilsalicílico, celecoxib, diclofenac, ibuprofeno, naproxeno, e em casos mais graves, o meloxicam e o cetorolac. Para diminuir o risco de úlceras gastrointestinais, é recomendada a coadministração de inibidores da bomba de prótons ou antagonistas H2 em conjunto com AINEs (189,193).

### 7.2.2 Corticosteroides

Os glucocorticoides (GC) desempenham um papel fundamental no tratamento da AR, sendo utilizados desde 1948 (195). Os GC apresentam propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras, e apesar de terem demonstrado retardar a progressão da AR, os GC não devem ser utilizados em monoterapia para a AR devido ao potencial de efeitos adversos graves a longo prazo (195). A terapia GC ( $\leq 10$  mg diários de um equivalente de prednisona) deve ser implementada aquando do início ou da mudança da terapia convencional (csDMARD), sendo assim uma terapia de transição (terapêutica de ponte) até à implementação da ação terapêutica dos DMARDs (196). Os GC devem ser utilizados durante três meses e também podem ser utilizados no tratamento de crises. Adicionalmente, podem ser também utilizados como adjuvantes dos DMARDs, em doses baixas, em doentes com doença refratária (196).

Os GC exercem o seu efeito anti-inflamatório e imunossupressor através de dois mecanismos, um genómico e outro não genómico. O mecanismo genómico é mediado pelo recetor esteroide, que após a ligação com a molécula esteroide, no citoplasma, forma um complexo fármaco-recetor e altera a transcrição genética (197-198). Isto resulta na inibição da expressão e tradução de genes, que controlam a síntese de mediadores pró-inflamatórios e enzimas, como o TNF e a COX-2 que estão envolvidos na resposta inflamatória, no núcleo da célula. Assim que o complexo é formado, o mecanismo não-genómico ocorre paralelamente, este mecanismo é mais rápido e é mediado pelo recetor intracelular dos GCs. Esta interação vai desencadear a inibição da cascata inflamatória, principalmente a inibição da via da fosfolipase A2 (197). Esta inibição advém da estimulação da síntese da lipocortina pelos corticosteroides, o que origina a diminuição da libertação do ácido araquidónico (o precursor das prostaglandinas e leucotrienos) e a consequente inibição da produção de citocinas inflamatórias (197,199).

Os GC de ação sistémica (como são exemplo, a prednisona, a prednisolona e dexametasona) apresentam uma eficácia significativa no alívio dos sintomas da AR, no entanto, a presença de efeitos secundários limita o seu uso. A incidência dos efeitos está relacionada tanto com a duração do tratamento como com a dose. Um dos efeitos adversos mais comum e mais presente em doentes com AR é a osteoporose induzida por GC (199). Este fenómeno deve-se à supressão da absorção intestinal de  $\text{Ca}^{2+}$  e à inibição da formação óssea pelo aumento da atividade dos osteoclastos, como também a diminuição da síntese de hormonas sexuais (199). Para além da osteoporose, a síndrome de Cushing também é observada em doentes com terapia corticoide, geralmente através do aumento de peso e redistribuição do tecido adiposo (características como face de lua cheia e pescoço de búfalo) (199). Outros efeitos comuns são

a hiperglicemia, glaucoma, cataratas, imunossupressão (o que aumenta o risco de infeções oportunistas), edemas periféricos e hipertensão arterial (198-199).

O tratamento com GC deve ser descontinuado gradualmente, apesar de alguns especialistas defenderem a continuação de doses baixas de glucocorticoides a longo prazo na AR (200). A interrupção da terapia GC resulta na exacerbação da doença para os quais foram prescritos e também sintomas de abstinência como febre, mialgias, artralguas e mal-estar, que podem ser difíceis de diferenciar de sintomas relacionados com a doença. Por esta razão, a maioria dos protocolos recomenda a redução gradual da dose diária ou a transição para um regime de dias alternados antes da redução gradual (200).

### 7.2.3 Analgésicos

Apesar dos grandes avanços nas estratégias de tratamento da AR, o controlo da dor continua a constituir um grande desafio, sendo uma das principais manifestações dos doentes (201). Uma das principais origens da dor deve-se à inflamação sinovial presente, devido à produção de citocinas, e outros mediadores inflamatórios que sensibilizam os nervos aferentes. A dor crónica é definida pela Associação Internacional para o Estudo da Dor, como uma dor persistente ou recorrente que dura mais de 3 meses ou para além do período normal (202). Já a dor crónica não oncológica refere-se a qualquer dor crónica que não se deva a uma doença maligna e pode ser classificada como dor neuropática ou dor nociceptiva, e é observada em 50% dos doentes com AR (202-203). Os AINEs constituem a primeira linha na abordagem do tratamento da dor na AR, porém existem outras opções quando estes não são eficazes, tais como o paracetamol, capsáicina tópica, antidepressivos (em casos refratários, apesar de haver pouca evidência no alívio da dor em doentes com AR) e em última linha, opióides fracos (codeína, dextropropoxifeno e tramadol) durante 6 semanas (204).

Embora a prescrição de opióides possa ser a única opção para alguns doentes para os quais outros analgésicos estão contraindicados, é necessário realizar uma avaliação benefício risco. Alguns estudos demonstraram que a utilização de tramadol está relacionada com um aumento de efeitos adversos cardiovasculares graves e um aumento significativo da mortalidade (205-206). Nas últimas décadas, tem-se assistido a um aumento exponencial da prescrição de opióides em países ocidentais, como os Estados Unidos, e em alguns países europeus e na Austrália. Cenário que não se aplica a Portugal, pois estima-se que a prescrição de opióides em doentes com dor crónica é de apenas 4%, em contraste, com as estimativas disponíveis de taxas de prescrição noutros países ocidentais, que estão compreendidas entre 15% a 30% (207). Porém, o uso prolongado destes fármacos está associado ao risco de desenvolvimento de

eventos adversos, tais como distúrbios gastrointestinais (náuseas, obstipação), disfunção neuroendócrina, osteoporose, imunossupressão, distúrbios cognitivos, sonolência, depressão respiratória, dependência física e química e hiperalgesia induzida por opióides (207).

Num estudo de Krebs *et. al.*, o tratamento com opióides em doentes com dores crónicas nas costas ou dores de osteoartrite da anca ou do joelho não resultou numa melhoria significativa da função relacionada com a dor ao longo de 12 meses, em comparação com medicamentos não opióides (208). Portanto, a prescrição de opióides a longo prazo não é suportada pela evidência existente e a sua relação benefício-risco não parece ser favorável devido ao elevado número de efeitos secundários associado (208-209).

Por isso, o seu uso deve ser restringido a casos excecionais e a curto prazo, e os médicos devem efetuar uma avaliação cuidadosa e discutir os potenciais benefícios e riscos dos analgésicos opióides, bem como sugerir abordagens alternativas para o controlo da dor (por exemplo, melhor controlo da atividade da doença AR, ou outras causas de dor) (210).

#### **7.2.4 Fármacos antirreumáticos modificadores da doença sintéticos convencionais**

A utilização do termo “convencional” está relacionada com a observação da eficácia clínica de um fármaco ter precedido o conhecimento aprofundado do seu mecanismo de ação, que ainda parece ser apenas parcialmente conhecido para a maioria dos DMARDs sintéticos. Ao contrário dos DMARDs dirigidos, os csDMARDs não foram concebidos com a intenção de atuar contra uma molécula específica (o alvo molecular) envolvida na via inflamatória relevante para a doença (211). Independentemente do desenvolvimento de terapias direcionadas, os (csDMARDs) continuam a constituir a primeira linha de tratamento da AR (211).

Esta classe farmacológica tem a capacidade de promover remissão pela supressão da atividade autoimune e do atraso e prevenção da degeneração articular. A terapêutica DMARD deve ser iniciada aquando do diagnóstico da doença, uma vez que a sua aplicação precoce conduz a melhores resultados, especialmente tendo em conta que os DMARD são fármacos de ação lenta com um início retardado entre 6 semanas a 6 meses.(10) Os DMARDs são uma classe heterogénea de fármacos, onde estão incluídos fármacos como metotrexato (MTX), a leflunomida (LEF), a hidroxicloroquina (HCQ) e a sulfassalazina (SSZ), que são os mais frequentemente utilizados. Isto deve-se aos outros fármacos da mesma classe apresentarem um perfil de eficácia e segurança inferior, tais como os sais de ouro, a azatioprina, a d-penicilamina, a ciclosporina, a minociclina, a ciclofosdamida, a auranofina e o micofenolato de mofetil, representados no Quadro 7.1.(10)

## Novas abordagens terapêuticas para o tratamento da Artrite Reumatóide

Apesar de existirem estudos que demonstram bons resultados, a escolha de iniciar o tratamento com uma combinação de dois ou três csDMARDs (em doentes sem csDMARDs) já não é explicitamente recomendada e priorizada nas versões atuais das recomendações europeias e das diretrizes do ACR. Embora já tenha sido incluída nas diretrizes da ACR/EULAR de 2013, uma das principais razões pelo qual a combinação de csDMARDs já não seja considerada está relacionada com a toxicidade que estas associações podem provocar. Uma das vantagens da utilização de csDMARDs é a sua acessibilidade, especialmente se considerarmos que a possibilidade de conseguirmos obter medicamentos biológicos, nomeadamente agentes-alvo é dispendioso, e por vezes, limitado. (211)

**Quadro 7.1-**Características dos fármacos da classe csDMARDs (Adaptado de (212-218)).

csDMARDs	Mecanismo de ação	Efeitos adversos	Toxicidade	Parâmetros de monitorização	Comentários
<b>Metotrexato</b>	Inibidor do ribonucleótido 5-aminoimidazol-4-carboxamida transformilase. Inibidor da di-hidrofolato redutase.	Efeitos GI (náuseas, vômitos), ulceração das mucosas, <i>rash</i> cutâneo, alopecia.	Administração crónica: Leucopenia, cirrose, anemia, síndrome tipo pneumonia.	Hemograma com plaquetas, AST, albumina a cada 1-2 meses.	Deve ser administrado com ácido fólico 1-5 mg/dia para reduzir os efeitos adversos. É teratogénico e por isso, está contraindicado na gravidez e na amamentação.
<b>Leflunomida</b>	Inibidor da di-hidro-orotato desidrogenase.	Cefaleias, náuseas, diarreia, alopecia, perda de peso.	Contraindicada em doentes com doença hepática, por ser hepatotóxica.	Hemograma com plaquetas e ALT.	Podem ser utilizados em monoterapia ou em combinação com outros DMARD. Eficácia semelhante ao MTX. Teratogénico
<b>Hidroxicloroquina</b>	Possíveis mecanismos na AR: -Supressão das respostas dos linfócitos T aos mitogénios, -Inibição da quimiotaxia dos leucócitos. O seu mecanismo de ação nas doenças autoimunes é desconhecido.	Toxicidade ocular (principal efeito adverso).	Dispepsia, náuseas, vômitos, dor abdominal, erupções cutâneas.	Exames oftalmológicos periódicos.	É normalmente utilizado em combinação com outros DMARDs. A sua administração deve ser com alimentos.
<b>Sulfasalazina</b>	O mecanismo na AR ainda não está esclarecido.	Náuseas, vômitos, cefaleias e erupção cutânea.	Leucopenia	Hemograma com plaquetas a cada 1-2 meses.	30% dos doentes que usam SSZ interrompem o fármaco devido à toxicidade.
<b>Azatioprina</b>	Pro-fármaco da 6-mercaptopurina e da 6- tioguanina. Inibidor da purina sintase que leva à diminuição da ativação e proliferação dos linfócitos T e B.	Náuseas, febre, fadiga, artralgias, mielossupressão.	Hepatotoxicidade	Hemograma com ALT, AST.	Podem levar 1 a 3 meses até apresentar efeito terapêutico. Teratogénico.
<b>D-penicilamina</b>	Agente quelante. Na AR pode suprimir a atividade dos linfócitos T, embora o seu mecanismo de ação preciso permaneça desconhecido.	Erupção cutânea, proteinúria, trombocitopenia e leucopenia.	Reações de hipersensibilidade	Análises às enzimas hepáticas (ALT, AST).	Raramente utilizada no tratamento da AR. Usada no tratamento da doença de Wilson. Teratogénico.
<b>Ciclosporina</b>	Inibidor da calcineurina. Inibe a produção de citocinas inflamatórias como a interleucina-2.	Hipertensão, arritmias.	Cardiotoxicidade, risco de convulsões.	Medição da tensão arterial, análises à creatinina.	Imunossupressor utilizado na prevenção da rejeição de órgãos após transplante.
<b>Ciclofosfamida</b>	Inibe a replicação celular pela ligação do metabolito ativo (mustarda fosforamida) ao DNA.	Cistite hemorrágica, alopecia e mielossupressão.		Análises à urina e análises sanguíneas.	Utilizada no tratamento do linfoma não Hodgkin, sarcoma e cancro da mama. Requer hidratação para evitar toxicidade ao nível da bexiga.
<b>Minociclina</b>	Minociclina é um antibiótico da classe das tetraciclina. Pode inibir as metaloproteinases ativas na deterioração da cartilagem articular. Inibidor da 5-Lipoxigenase.	Perturbações GI, tonturas e erupções cutâneas.	Uso prolongado pode levar à descoloração da pele.	Análises sanguíneas periódicas para verificar a função hepática e renal.	Raramente é usada no tratamento da AR. Deve ser administrado com alimentos. O seu início de ação é lento e pode demorar vários meses a fazer efeito.
<b>Auranofina</b>	Mecanismo de ação na AR ainda não está esclarecido.	Anemia aplástica e insuficiência renal aguda.	Pneumonia intersticial.	Hemograma	Já não é utilizada no tratamento da AR.
<b>Micofenolato de mofetil</b>	Inibe a inosina monofosfatos desidrogenase, levando à supressão da proliferação de linfócitos T e B.	Náuseas, dispepsia e dores abdominais.	Hepatotoxicidade, anemia e leucopenia.	Hemograma	Está associado a anomalias congénitas e aumento do risco de perda de gravidez.

**Abreviaturas:**ALT, Alanina aminotransferase;AR, Artrite Reumatóide; AST, Aspartato aminotransferase; DNA, Ácido desoxirribonucleico; DMARDs, Fármacos antirreumáticos modificadores da doença; GI, Gastrointestinais; MTX, Metotrexato; SSZ, Sulfassalazina.

#### 7.2.4.1 Metotrexato

O MTX é um antimetabolito sintético não biológico e constitui a primeira linha de csDMARDs para o tratamento da AR, sendo utilizado em 50-70% dos doentes.<sup>(213)</sup> É considerado o fármaco “âncora” no tratamento da AR, por revelar um perfil de segurança e eficácia bem estabelecido, um custo relativamente baixo e uma dose e vias de administração versáteis, podendo cerca de três a seis semanas até apresentar benefício clínico (211,213). O MTX tem propriedades anti-proliferativas, anti-metabólicas e anti-inflamatórias devido aos seus mecanismos de ação. Este fármaco tem a capacidade de reduzir significativamente o nível de citocinas pró-inflamatórias através da modulação da infiltração de uma grande quantidade de células imunitárias e inflamatórias, incluindo neutrófilos, monócitos, mastócitos, linfócitos Th e linfócitos B, no líquido sinovial (213). Uma das grandes vantagens da utilização deste fármaco, para além da diminuição da atividade da doença, sintomas, sinais e uma melhor função física, é a diminuição dos efeitos cardiovasculares que acompanham a doença, aumentando a taxa de sobrevivência destes doentes (219).

Atendendo aos seus mecanismos celulares, as propriedades anti-proliferativas do MTX, derivam do facto de este ser um análogo do folato, que ao inibir a dihidrofolato redutase, inibe a síntese e o metabolismo dos nucleótidos, tendo como consequência, a inibição da formação do DNA, RNA e proteínas, provocando assim a supressão da proliferação de células inflamatórias (211,219).

Os efeitos anti-inflamatórios exercidos pelo MTX resultam da via de sinalização da adenosina, que ao restabelecer a quimiotaxia dos neutrófilos e monócitos, vai alterar a expressão das moléculas de adesão dos mesmos e inibe a inflamação através da ligação aos seus recetores. A acumulação de adenosina deve-se à inibição da transformação do ribonucleótido 5-aminoimidazole-4-carboxamida (AICAR) em formil AICAR, através da inibição da enzima-chave AICAR transformilase da síntese de purinas (219).

Este fármaco também é usado no tratamento de neoplasias malignas e outras patologias, no entanto, os efeitos anti-inflamatórios do MTX ocorrem em doses muito mais baixas, comumente usadas no tratamento da AR e de outras doenças reumáticas. O MTX pode ser administrado por via oral, subcutânea (SC) ou intramuscular, porém a via SC e intramuscular apresentam uma biodisponibilidade mais elevada do que a oral e, por conseguinte, sugere uma

eficácia clínica superior, sendo assim mais bem tolerado e com menor potencial para provocar efeitos secundários gastrointestinais (GI) (211,220).

Os efeitos adversos mais comuns do MTX, quando utilizado na AR, são ulceração da mucosa e náuseas (212). Como esta terapia é de carácter crónico, podem ocorrer outros efeitos como citopenias (particularmente leucopenia), cirrose hepática e síndrome tipo pneumonia aguda (212). Uma forma de diminuir a incidência dos efeitos adversos e aumentar a tolerabilidade é a administração de 5 mg de ácido fólico, no segundo dia após o tratamento (211). Para além disso, o MTX também é teratogénico e não deve ser administrado durante a gravidez nem durante a amamentação (220).

#### **7.2.4.2 Leflunomida**

A Leflunomida (LEF) começou a ser comercializada em 1998, no mesmo ano em que os primeiros agentes biológicos, o infliximab e o etanercept, foram aprovados para o tratamento da AR. Constituindo a melhor alternativa disponível ao MTX para o tratamento da AR quando este não é eficaz ou existe intolerância, e por isso é reconhecida como tal pelas atuais guidelines de tratamento. Considerando o seu mecanismo de ação, a LEF é um pró-fármaco que exerce os seus efeitos imunomoduladores através do seu metabolito ativo (211). O principal alvo molecular da LEF é a di-hidro-orotato desidrogenase, uma enzima envolvida na nova síntese de pirimidinas. A inibição desta enzima vai ter impacto nos processos imunológicos envolvidos na patogénese da AR, como linfócitos T e B, a ativação e a expressão do fator nuclear kappa B, bem como a produção de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- $\alpha$  (211).

Um estudo de Kellner *et al.*, demonstrou que a LEF foi capaz de induzir remissão, de acordo com o protocolo DAS28 (correspondente a uma baixa atividade da doença de acordo com as normas atuais) em 25% dos doentes com AR inicial (221).

Para além da sua utilização em monoterapia, a LEF pode também ser administrada em associação com outros DMARDs e/ou agentes-alvo. Tal como o MTX, os distúrbios GI (diarreia, náuseas) são comuns aquando da terapia com LEF assim como a elevação das enzimas hepáticas, por isso, os doentes devem ser monitorizados através da realização de um hemograma, para além da verificação dos níveis das enzimas hepáticas. A terapia com LEF está contraindicada na gravidez e doentes com doenças hepáticas (212).

#### **7.2.4.3 Hidroxicloroquina**

A HCQ é um fármaco antimalárico, mas devido aos seus efeitos imunomoduladores pode ser uma opção alternativa no tratamento da AR. O mecanismo de ação na AR ainda não

está bem estabelecido, mas sabe-se que a HCQ interfere no processo de inflamação articular pela regulação da produção de citocinas pró-inflamatórias, e também interfere na interação dos linfócitos Th com os macrófagos apresentadores de antígenos e na ativação dos receptores *toll-like*, reduzindo assim a resposta inflamatória global (222). Uma das desvantagens da HCQ é o início de ação terapêutica retardado, levando aproximadamente 6 semanas a seis meses até exibir efeito terapêutico (212). Para além disto, é considerado um fármaco eficaz na fase moderada da doença, demonstrando uma melhoria do resultado funcional a longo prazo e um retardamento do dano radiográfico. Os efeitos adversos mais comuns são predominantemente GI, dermatológicos e oftalmológicos (222). Por outro lado, a administração de doses elevadas e a utilização prolongada de HCQ são suscetíveis a danos irreversíveis na retina, mesmo após a interrupção do tratamento (212,222).

#### **7.2.4.4 Sulfassalazina**

A SSZ foi introduzida como opção terapêutica na AR no final da década de 1930, sendo o primeiro fármaco sintetizado especificamente para esta doença (211). O mecanismo da SSZ não é totalmente conhecido, sendo um pró-fármaco do ácido 5-aminossalicílico (mesalamina ou mesalazina) e da sulfapiridina. O efeito terapêutico é exibido pela clivagem da ligação de azoto pelas bactérias presentes no cólon, que libertam assim o composto ácido 5-aminossalicílico. Acredita-se que a SSZ inibe o fator de transcrição do fator nuclear kappa B suprimindo assim a transcrição de genes pró-inflamatórios que respondem ao fator nuclear kappa B, incluindo o TNF- $\alpha$  (223). Tal como a LEF, a SSZ pode ser usada como monoterapia ou em combinação com outros DMARDs. O benefício clínico ocorre geralmente em 4 semanas, porém, só é observado após 12 semanas, em alguns doentes. A sua utilização é limitada, principalmente pelos efeitos GI associados que ocorrem nos primeiros meses da toma. Ao contrário dos outros csDMARDs, a SSZ pode ser utilizada durante a gravidez apesar de atravessar a placenta e estar presente no leite materno, por isso deve ser utilizada com precaução (211,220).

#### **7.2.5 Fármacos antirreumáticos modificadores da doença biológicos**

A terapêutica convencional apenas é capaz de inibir moléculas pequenas, no entanto, as citocinas envolvidas no processo inflamatório da AR são péptidos de grandes dimensões e por isso só podem ser inibidas por moléculas que apresentem uma complexidade e dimensão superior. Os biológicos utilizados na AR são constituídos por proteínas geneticamente

modificadas derivadas de genes humanos. Conforme mencionado, é uma abordagem terapêutica dirigida, que tem por base a inibição de certos mediadores moleculares envolvidos nas vias inflamatórias e imunológicas, que desempenham um papel importante na inflamação presente na AR. Estes fármacos podem ser divididos em 2 tipos, os que se ligam diretamente à citocina pró-inflamatória e os que se ligam ao recetor, como os anti-TNF (224-225).

Os bDMARDs podem ser classificados como inibidores do TNF (adalimumab, certolizumab, etanercept, golimumab, infliximab), tendo sido os primeiros fármacos desta classe, ou fármacos biológicos não-TNF, constituídos por agentes com fármacos mais recentes que têm como alvo os recetores CD-20 dos linfócitos B (rituximab), a IL-6 (tocilizumab, sarilumab), a IL-1 (anakinra) e os recetores CD28 das células T (abatacept), representados no Quadro 7.2 (224-226).

Apesar de todos os fármacos nesta classe apresentarem uma eficácia semelhante, os inibidores do TNF são frequentemente escolhidos como bDMARDs de primeira linha, principalmente nos doentes que não respondem ao MTX, isto deve-se à informação que existente relativa ao uso a longo prazo, eficácia e perfil de segurança destes fármacos (227). Os inibidores do TNF são mais eficazes na redução da atividade da doença e na diminuição da erosão radiográfica quando comparados aos csDMARDs, porém o seu efeito terapêutico é potencializado quando são administrados com o MTX. No entanto, 40% dos doentes respondem inadequadamente a um tratamento inicial com um bDMARD anti-TNF, devido a uma não resposta primária, perda de resposta ou intolerância (227). Perante esta situação, existem provas contraditórias sobre se a escolha de um inibidor do TNF alternativo é tão eficaz como um fármaco da mesma classe, mas com outro mecanismo de ação (inibidores da IL-6, da IL-1, de linfócitos B e de coestimuladores dos linfócitos T). As diretrizes mais recentes do ACR priorizam a mudança para uma classe de fármacos diferente, em vez da inibição sequencial do TNF (227).

É importante referir que, de todos os bDMARDs, apenas os inibidores do fator de necrose tumoral (TNFi) estão aprovados durante a gravidez e na amamentação (224).

**Quadro 7.2-** Principais Fármacos antirreumáticos modificadores da doença biológicos usados na AR (Adaptado de (225)).

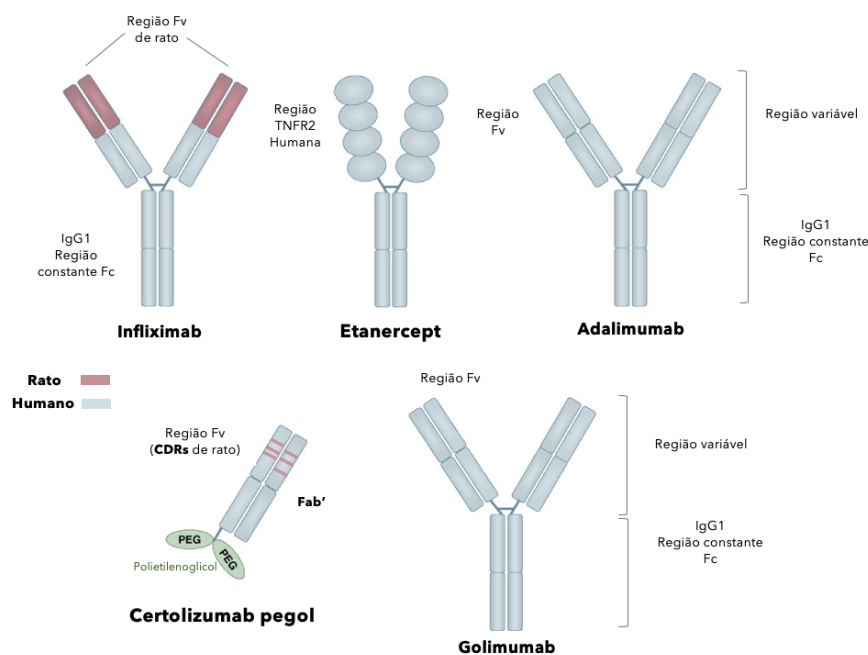
<b>Biológicos</b>	<b>Fármaco</b>	<b>Mecanismo de ação</b>
<b>Inibidores TNF</b>	Adalimumab	Anticorpo recombinante monoclonal IgG1 humano.
	Etanercept	Proteína solúvel de fusão do recetor p75 do TNF.
	Infliximab	Anticorpo quimérico IgG1 anti-TNF- $\alpha$ .
	Certolizumab pegol	Fragmento recombinante humanizado Fab' de um anticorpo anti-TNF acoplado a polietilenoglicol.
	Golimumab	Anticorpo monoclonal IgG1 humano recombinante específico para TNF- $\alpha$ .
<b>Inibidor da interleucina-6</b>	Tocilizumab	Anticorpo monoclonal IgG1 humanizado inibidor do recetor da interleucina-6 (IL-6) humana.
	Sarilimumab	Anticorpo monoclonal seletivo para o recetor da IL-6.
<b>Inibidor da interleucina-1</b>	Anakinra	Antagonista do recetor da interleucina-1 humana.
<b>Inibidor do Linfócito B (CD20)</b>	Rituximab	Anticorpo monoclonal quimérico que tem como alvo, células que expressam CD20.
<b>Inibidor do coestimulador do linfócito T (CD28)</b>	Abatacept	Imunoglobulina fundida com o domínio extracelular do antígeno citotóxico antígeno 4 que ao ligar-se aos recetores CD80/86 das APC inibe a ativação dos linfócitos T (por meio da interação com o ligando CD28).

**Abreviaturas:** APC, Células apresentadoras de antígenos; **IgG1**, Imunoglobulina G subclasse 1; **IL**, Interleucina; **TNF- $\alpha$** , Fator de necrose tumoral alfa.

### 7.2.5.1 Inibidores do fator de necrose tumoral

O tratamento da AR foi revolucionado pela descoberta do papel de certas citocinas, em particular do TNF- $\alpha$ , na patogénese da doença. O TNF desempenha um papel fundamental em vários processos imunitários e inflamatórios, incluindo a ativação, a sobrevivência, proliferação celular e a apoptose. Esta citocina é produzida principalmente por células de origem hematopoiética, incluindo células da linhagem mieloide, como os monócitos e os macrófagos, em resposta a estímulos. Como a sua fonte celular depende da natureza do estímulo, pode ainda ser produzida por linfócitos T e B face dos estímulos antigénicos (228). Por isso, acredita-se que a desregulação das vias inflamatórias impulsionadas por citocinas, como o TNF, representa um mecanismo subjacente comum, em diversas doenças inflamatórias imunomediadas, como a AR (228).

Acompanhado desta descoberta, surgiram os fármacos anti-TNF, tendo sido os primeiros medicamentos biológicos aprovados na AR, em 1999 com a introdução do infliximab (229). Estes fármacos detêm estruturas moleculares que neutralizam a mesma via da cascata pró-inflamatória. O infliximab consiste num anticorpo monoclonal quimérico recombinante composto por uma estrutura de anticorpo humano com um idiótipo de rato, e neutraliza a atividade biológica do TNF- $\alpha$ , ligando-se a todas as formas desta citocina. O adalimumab e o golimumab são anticorpos monoclonais humanos que, tal como o infliximab, neutralizam a resposta inflamatória pela ligação ao TNF- $\alpha$  (222). Tal como o adalimumab, o etanercept, uma proteína de fusão de imunoglobulina G demonstrou eficácia na redução da progressão radiográfica e no alcance de remissão. Por último, o certolizumab é um fragmento Fab de um anticorpo monoclonal anti-TNF- $\alpha$  (Figura 7.2) (222).



**Figura 7.2-** Estrutura molecular dos cinco inibidores do fator de necrose tumoral alfa aprovados no tratamento da AR (Adaptado de (230)).

**Abreviaturas:** CDRs, Regiões determinantes da complementariedade; Fc, Região constante; Fv, Região variável; IgG1, Imunoglobulina G subclasse 1; PEG, Polietilenoglicol.

A eficácia dos cinco TNFi atualmente aprovados para o tratamento da AR é comparável. Apesar de apresentarem propriedades bioquímicas e farmacológicas diferentes, não parece existir uma diferença clinicamente significativa entre eles, em termos de eficácia e segurança. Por isso, a escolha do fármaco está dependente da preferência do doente, tendo em conta a via de administração e frequência do tratamento. Os TNFis são administrados por via

SC, com regimes de administração diferentes, à exceção do infliximab, que é administrado por IV (222,227).

Um dos efeitos comuns desta classe de fármacos é a reincidência de infeções, como a tuberculose, infeções fúngicas oportunistas e sépsis. Posto isto, os TNFi e os agentes biológicos não-TNF não devem ser utilizados em conjunto devido ao risco acrescido de infeções graves. Para além disso, as vacinas vivas também não devem ser administradas a doentes que estejam sob terapêutica biológica (212).

### **7.2.5.2 Inibidores da interleucina 6**

A IL-6 desempenha um papel fundamental no processo patogénico e imune da AR, pela contribuição da ativação dos linfócitos B e T, produção de proteínas de fase aguda e produção de autoanticorpos. Também estimula a reabsorção óssea, resultando na osteoclastogénese (224). O tocilizumab foi o primeiro anticorpo monoclonal humanizado aprovado contra o recetor da IL-6. Neste sentido, este anticorpo liga-se aos recetores solúveis e membranares de IL-6 e inibe a sinalização mediada por esta citocina. Este fármaco pode ser administrado por via SC ou IV. Pode ser utilizado em doentes com AR moderada a grave, que não tiveram resposta a um ou mais DMARDs (convencionais ou inibidores do TNF) e pode ser utilizada em monoterapia ou em associação com MTX (220,224). Ao contrário dos outros biológicos, não existe um risco de infeção por tuberculose, mas há um aumento dos níveis das enzimas hepáticas, risco de hiperlipidemias, neutropenia, hipertensão e reações relacionadas com a perfusão e com o local de injeção (212,224).

O sarilumab é um anticorpo monoclonal humano da subclasse Imunoglobulina de subclasse 1 que atua seletivamente no recetor da IL-6 (IL-6R) e está aprovado para o tratamento de doentes com AR que tenham uma resposta insuficiente ao MTX ou aos csDMARDs (224).

### **7.2.5.3 Inibidores da interleucina 1**

Os inibidores da IL-1 são proteínas que vão suprimir a atividade inflamatória da IL-1. Estes fármacos podem ter dois tipos de mecanismo de ação, nomeadamente, a inibição da atividade da IL-1 através da ligação ao recetor desta citocina (como a anakinra), ou por meio de anticorpos que se ligam diretamente às duas formas da IL-1, a IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Neste sentido, a anakinra é um antagonista do recetor da IL-1 humana, que neutraliza a atividade da IL-1 $\alpha$  e da IL-1 $\beta$ , através da inibição competitiva da ligação ao recetor da interleucina de tipo 1, e é o único inibidor da IL-1 aprovada no tratamento da AR (224). De todos os fármacos biológicos é o menos eficaz, e está aprovada para o tratamento da AR em combinação com MTX em caso

de resposta insuficiente à monoterapia com MTX (224). Apresenta como efeitos secundários, infecções do trato respiratório superior, alergias e reações ao nível do trato gastrointestinal (222).

#### **7.2.5.4 Modulador de Coestimulação**

Os linfócitos T, nomeadamente, os linfócitos CD4<sup>+</sup>, desempenham um papel importante na patogénese da AR. O único bDMARD que interfere com a ativação dos linfócitos T na AR é o abatacept. O abatacept é uma proteína recombinante de fusão constituída pelo domínio extracelular do antígeno 4 associado aos linfócitos T citotóxicos (CTLA-4) fundido com os domínios da região constante da imunoglobulina G subclasse 1. O domínio (CTLA-4) do abatacept liga-se ao ligando CD80/86 nas células apresentadoras de antígenos, impossibilitando a ativação dos linfócitos T (por meio da interação com o ligando CD28) (225). Para além disso, também foi demonstrado que o abatacept tem efeitos sobre outras células e alguns processos envolvidos na patogénese da AR, como a migração de macrófagos, a ativação dos linfócitos B e a produção de mediadores inflamatórios como as interleucinas, a PCR e o TNF- $\alpha$  (222,225). É importante referir que o abatacept, quando comparado ao MTX, demonstrou um aumento das taxas de remissão tanto em doentes que não receberam MTX como naqueles com resposta inadequada ao MTX. O abatacept está indicado para o tratamento da AR moderada a grave e pode ser utilizado em monoterapia ou combinado com o MTX. No entanto, o seu efeito terapêutico é potencializado quando é combinado com MTX, nomeadamente, na diminuição das lesões articulares(222). Pode ser administrado por via IV ou SC, e os efeitos secundários mais comuns passam por efeitos relacionados com a infusão, dores de cabeça ligeiras, náuseas e infeção do trato respiratório superior (212,222).

#### **7.2.5.5 Modulador de Células B**

O rituximab é um anticorpo monoclonal quimérico que se liga ao ligando CD20 dos linfócitos B, provocando a diminuição da sua produção. Este fármaco foi desenvolvido de forma a reduzir a produção de autoanticorpos patogénicos. No entanto, ainda não está compreendido, como a diminuição dos linfócitos B se relaciona com a diminuição da atividade da doença (225). O rituximab pode ser administrado em doentes com AR moderada a grave, que não tenham respondido adequadamente à terapêutica com um ou mais inibidores do TNF. De modo a obter melhores resultados, o rituximab deve ser administrado concomitantemente com o MTX, principalmente nos doentes que sejam seropositivos para o FR. O rituximab deve ser administrado através de uma infusão intravenosa a cada 16 a 24 semanas, pois a recuperação fisiológica do número de linfócitos T ocorre durante diversos meses (212). O efeito secundário

mais comum são reações à perfusão (urticária, hipotensão e angioedema), e por isso é regularmente aconselhada a administração de metilprednisolona, paracetamol e um anti-histamínico antes de cada infusão (212,220).

### **7.5.6 Biossimilares**

Os biológicos revolucionaram o tratamento de doenças crónicas, como a AR. No entanto estas terapias são constituídas por proteínas grandes e complexas que sofrem modificações pós-traducionais, sendo produzidas com recurso a células vivas. Por esta razão, a sua produção não está equiparada à escala comercial de outros medicamentos (não biológicos). Neste sentido, apesar desta terapêutica ser muito eficaz o elevado custo destes medicamentos, constitui um desafio para os sistemas de saúde. O aparecimento dos biossimilares permitiu que as terapêuticas biológicas se tornassem mais acessíveis, permitindo a sua utilização nas fases iniciais das doenças, para os quais estão indicados. Mesmo assim, o desenvolvimento de biossimilares é muito mais dispendioso do que o desenvolvimento de um medicamento genérico típico (não biológico).<sup>(231)</sup>

Os biossimilares são medicamentos biológicos similares, que contêm uma versão da substância ativa de um agente biológico original já aprovado (produto de referência), sendo que podem ser utilizados da mesma forma, e por extrapolação, nas mesmas indicações terapêuticas que o biológico de referência. Para que estes fármacos sejam aprovados, é necessário serem submetidos a ensaios "frente a frente" com o seu produto de referência, assegurando a sua biossimilaridade, ou seja, apresentarem um perfil de qualidade e segurança e eficácia, idêntico ao biológico de referência. Atualmente, em março de 2024 existem vários biossimilares aprovados para AR pela Agência Europeia do Medicamento, como são exemplo o infliximab, o adalimumab, o etanercept e o rituximab, que estão incluídos nas últimas diretrizes da EULAR de 2022.<sup>(231-233)</sup>

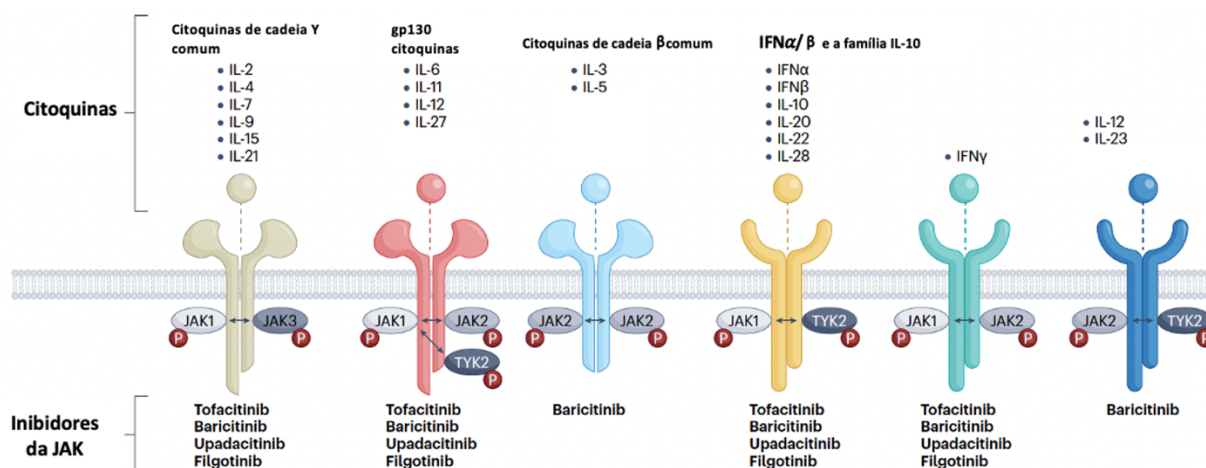
### **7.2.6 Fármacos antirreumáticos modificadores da doença sintéticos direcionados**

Apesar dos agentes biológicos dirigidos demonstrarem eficácia na diminuição da atividade da doença e na supressão da inflamação instituída na AR, ainda existe uma grande percentagem de doentes com evidências de doença persistente. E por isso, foi necessário encontrar terapias alternativas, como os inibidores da Janus Quinase (JAKi). Esta classe farmacológica é constituída por moléculas pequenas, que devido ao seu baixo peso molecular, conseguem atravessar a membrana plasmática e ligar-se competitivamente ao local de ligação do trifosfato de adenosina da JAK, suprimindo assim a transdução do sinal das citocinas (234-

235). Isto resulta na inibição de diversas citocinas inflamatórias importantes na patogênese da AR (236). As citocinas de classe I/II utilizam a via da JAK e do transdutor de sinal e ativador da transcrição (STAT) para exercerem o seu efeito na patologia da AR. Assim, muitas citocinas, como as IL-2, 6, 12, 15 e 23, e interferões, utilizam as vias JAK-STAT, enquanto outras, como a IL-1, a IL-17 e o TNF, não utilizam esta via (234-237).

Existem quatro tipos de JAK, nomeadamente JAK1, JAK2, JAK3 e tirosina quinase 2. As proteínas JAK individuais estão associadas aos transdutores de sinal e ativadores da transcrição (STAT1-STAT6) correspondentes. Neste sentido, a determinação das vias de sinalização das citocinas depende das diferentes combinações JAK-STAT (Figura 7.3). Até agora, 5 inibidores da JAK estão aprovados no tratamento da AR designadamente, o tofacitinib, o baricitinib, o upadacitinib, o filgotinib e o peficitinib embora, este último só esteja aprovado no Japão e na Coreia do Sul (234,238).

Uma das grandes vantagens em relação aos outros DMARDs, é a via de administração, que no caso dos tsDMARDs, é por via oral, constituindo assim, uma opção terapêutica mais cómoda e com um nível de eficácia equiparada aos restantes DMARDs. Porém, estão associados efeitos adversos significativos, como a neutropenia/linfopenia/anemia, risco aumentado de infeções graves, reativação viral (herpes zoster), risco de aparecimento de linfomas e doenças malignas, eventos cardiovasculares *major* e tromboembolismo venoso, sendo também contraindicados na gravidez (236).



**Figura 7.3-** Sinalização de citocinas através de JAKs e inibidores de JAK. As várias classes de citocinas sinalizam através de diferentes combinações das Janus Quinases (JAKs) JAK1, JAK2, JAK3 e tirosina quinase 2 (Adaptado de (238)).

**Abreviaturas:** IFN, Interferão; IL, Interleucina; JAK, Janus Quinase; TYK2, Tirosina quinase 2.

O tofacitinib é um inibidor da JAK não seletivo e foi o primeiro fármaco nesta classe a ser aprovado para o tratamento da AR. Este fármaco exerce a sua ação pela inibição da JAK1 e JAK3 e, em menor grau, a JAK2. Está aprovado para o tratamento da AR moderada a grave em associação com o MTX, ou em monoterapia após intolerância ao MTX, TNFis ou uma não resposta ao tratamento inicial. Para além disso, demonstrou ser eficaz na diminuição da atividade da doença com MTX, em doentes refratários aos TNFis (236,239).

Em 2018, o baricitinib foi aprovado para o tratamento da AR moderada a severa, em monoterapia ou em combinação com MTX em doentes com resposta inadequada a um ou mais DMARDs convencionais e biológicos (240). O baricitinib é um inibidor potente, reversível e seletivo da JAK1/JAK2, com uma seletividade 100 vezes superior para a JAK1/JAK2, em relação à JAK3 (239). Num ensaio o baricitinib demonstrou melhorar a dor e a função física em doentes com AR bem controlada, sugerindo que pode produzir efeitos para além da imunomodulação (239). No entanto, esta terapêutica é acompanhada de diversos efeitos adversos, como náuseas, trombocitose, aumento do colesterol LDL, infeções do trato respiratório e efeitos graves secundários, relacionados com a imunossupressão (240-241).

Contrariamente, aos primeiros fármacos aprovados para desta classe, o upadacitinib é um inibidor seletivo da JAK1, e está indicado para o tratamento da AR moderada a severa, em doentes adultos que responderam inadequadamente ou que são intolerantes a um, ou mais DMARDs. O upadacitinib demonstrou ser eficaz em monoterapia, exibindo melhorias estatisticamente significativas, em comparação com a continuação do MTX numa população com resposta inadequada ao MTX (235,237,242).

O filgotinib, é o JAKi mais recente, aprovado pela Agência Europeia do Medicamento, no tratamento da AR moderada a severa, e pode ser utilizado em monoterapia ou em combinação com MTX, em adultos com resposta inadequada ou intolerância a um ou mais DMARDs (243). É um inibidor seletivo da JAK1, e apresenta um perfil de segurança e eficácia semelhante aos restantes tsDMARDs(243). Num estudo de Combe *et al.*, o filgotinib demonstrou melhorias nos sinais e sintomas da AR, como também na função física dos doentes. Para além disso, também foi capaz de inibir a progressão radiográfica, exibindo um perfil de tolerabilidade aceitável em doentes com resposta inadequada ao MTX (244).

## 8. Algoritmo terapêutico

A AR é uma patologia complexa, caracterizada por uma interação entre fatores genéticos e epigênicos que contribuem para a sua heterogeneidade da mesma, por isso uma terapia individualizada é praticamente impossível. Atualmente, existem algoritmos terapêuticos estabelecidos, nomeadamente, pela EULAR, sendo os últimos de 2022, que servem de modelo na escolha da terapêutica mais indicada para cada doente (Figura 8.1). Estas diretrizes são utilizadas pelas sociedades de reumatologia, a nível internacional, baseadas no conhecimento da eficácia, segurança e custo de cada terapêutica, no qual cinco princípios e onze recomendações de tratamento estão estabelecidos (233,245).

Devido à complexidade desta patologia, a sua abordagem terapêutica deve ser multidisciplinar, garantindo a realização de uma avaliação regular de forma a selecionar a terapêutica mais adequada e implementar alterações, se necessário, em função da atividade da doença, aplicando o princípio T2T. Neste sentido, existem vários estudos que evidenciam que esta abordagem permite um melhor controlo da atividade da doença e melhores resultados a longo prazo, em comparação com estratégias mais agressivas (246). O objetivo do tratamento da AR deve focar-se em melhorar a qualidade de vida do doente, de forma a colmatar os seus sintomas e queixas, estabilizar a atividade da doença, alcançar a remissão e prevenir o dano articular. No entanto, alcançar a remissão nem sempre é possível, e por isso, os médicos devem encontrar estratégias, tendo em conta, as comorbilidades, queixas, destruição articular e capacidade funcional de cada doente, de forma a reduzir a atividade da doença (246-247).

Tendo em consideração esta abordagem, a avaliação da atividade da doença é crucial na prática clínica e na decisão terapêutica e por isso, devem ser utilizadas ferramentas que incluam o número de articulações afetadas, tal como o DAS28, SDAI e o CDAI, que fornecem escalas numéricas contínuas que refletem a atividade da doença (Quadro 8.1). Para além disso, estas escalas também classificam estados da atividade da doença como alta, moderada, baixa e remissão. Os critérios de remissão, na AR podem ser estabelecidos pelos critérios do ACR/EULAR, sendo baseados numa abordagem booleana ou numa abordagem de índice utilizando os critérios do SDAI ou do CDAI. Adicionalmente, existem outros critérios, tais como o DAS28-VS, DAS28-PCR, que não são utilizados por poderem apresentar resultados falsos positivos (247).

**Quadro 8.1** - Ferramentas e critérios de remissão ACR/EULAR (Adaptado de (247)).

Componentes		Remissão	Baixa atividade	Atividade moderada	Elevada Atividade
		<b>DAS28-VS</b>	Contagem de articulações sensíveis (de 28), contagem de articulações inchadas (de 28), taxa de sedimentação de eritrócitos (em mm), saúde global	<2,6	2,6–3,2
<b>DAS28-PCR</b>	Contagem de articulações sensíveis (de 28), contagem de articulações inchadas (de 28), proteína C-reativa (em mg/dL), saúde global	<2,6	2,6–3,2	>3,2 a ≤5,1	>5,1
<b>SDAI</b>	Contagem de articulações sensíveis (de 28), contagem de articulações inchadas (de 28), avaliação global do doente, avaliação global do médico, PCR (em mg/dL)	<3,3	3,3–11	>11 a ≤26	>26
<b>CDAI</b>	Contagem de articulações sensíveis (de 28), contagem de articulações inchadas (de 28), avaliação global do doente, avaliação global do médico	<2,8	2,8–10	>10 a ≤22	>22
<b>ACR-EULAR remissão</b>	<b>Índice:</b> SDAI, CDAI; <b>Booleano:</b> contagem de articulações inchadas (de 28), contagem de articulações sensíveis (28), avaliação global do doente, PCR (em mg/dL)	SDAI <3,3, CDAI <2,8, <b>Booleano tudo ≤1</b>	-	-	-

**Abreviaturas:** ACR, Colégio Americano de Reumatologia; CDAI, Índice de Atividade Clínica da Doença; DAS28-, Pontuação de Atividade da Doença em 28 articulações; EULAR, Aliança Europeia de Associações de Reumatologia; PCR, Proteína C-reativa; SDAI, Índice Simplificado de Atividade da Doença; VS, Velocidade de Sedimentação.

Em Portugal, a atividade da doença da AR é calculada a partir de 3 escalas visuais analógicas, (atividade da doença avaliada pelo médico e doente e avaliação da dor), avaliação das articulações, que está dividida em três categorias, (articulações dolorosas, inchadas e não avaliáveis), a VS e a PCR. Igualmente, também é utilizado o DAS28, com 3 a 4 variáveis com a PCR ou VS, tal como o SDAI e o CDAI, que são calculados, logo após a introdução dos dados de cada doente (248).

Para avaliar a resposta à terapêutica, o ACR estabeleceu critérios de forma a avaliar a melhoria clínica, tendo em conta o número de articulações sensíveis e inchadas, com base em três de cinco critérios, sendo o primeiro a avaliação global da atividade da doença pelo doente, avaliação global da atividade da doença pelo médico, avaliação da dor pelo doente, questionário de avaliação da saúde e por último, os valores da VS ou da PCR. Posto isto, a avaliação compreende três resultados, ACR20,50,70. Por definição, uma resposta ACR20 é atribuída quando o doente sente uma melhoria de 20 % (mínima) no número de articulações sensíveis e

de  $\geq 20\%$  no número de articulações inchadas em pelo menos três dos seguintes 5 critérios mencionados anteriormente. O mesmo é aplicado nas respostas ACR50 e 70, obtendo uma melhoria de 50% (ACR50, resposta moderada) e 70% (ACR70, resposta importante) (247,249).

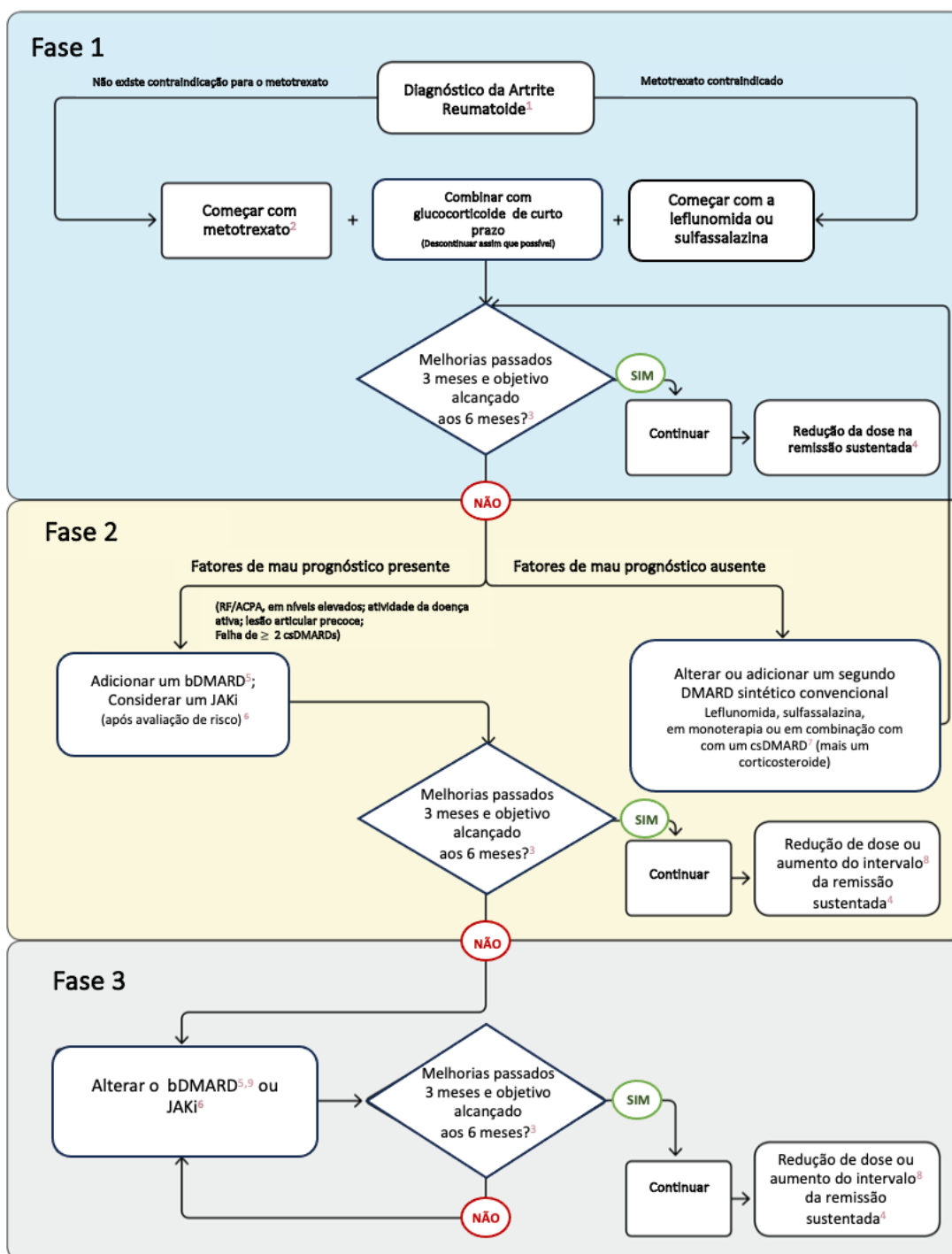
A resposta ACR20 está validada pela FDA (do inglês: *Food and Drug Administration*), e é muito utilizada em ensaios clínicos, de forma a caracterizar a eficácia de novos fármacos, relativamente aos sinais e sintomas da AR.(247,249) O algoritmo terapêutico mais recente da EULAR de 2022 foi desenvolvido com base na abordagem T2T, em que estão estabelecidas três fases de tratamento, em que se o objetivo primário (remissão ou diminuição da atividade da doença) não for alcançado dentro de 6 meses, o tratamento prossegue para a fase seguinte. Para além disso, um dos fatores mais importantes que assegura a eficácia desta abordagem é a monitorização da doença, que deve ser realizada de cada mês a 3 meses. Caso não se verifiquem melhorias após três meses de tratamento, é necessário um ajuste terapêutico (233).

Neste sentido, aquando do diagnóstico e seguindo o algoritmo terapêutico da EULAR de 2022, a terapia com csDMARD deve ser iniciada, preferencialmente com o MTX, por apresentar um perfil de segurança e eficácia bem estabelecido no início da doença. No entanto, nem todos os doentes respondem ao MTX. Nestes casos, deve-se optar por outro fármaco da mesma classe (csDMARD), havendo preferência pela LEF ou SSZ (233). Nesta primeira fase, é recomendado o uso de GC a curto prazo, de modo a suprimir a inflamação. Mas também deve ser usado no início da terapêutica reumática ou quando se verifica uma alteração para outro fármaco da mesma classe, sendo que os GC devem ser descontinuados de forma gradual e assim que haja essa possibilidade (233).

Se os doentes responderem a esta primeira abordagem e indicadores de remissão ou diminuição da atividade da doença estiverem presentes, a terapêutica deve ser continuada. Caso isto não se verifique, deve-se avaliar a presença de fatores de prognóstico negativos. Se esta hipótese for válida, então é necessário alterar a classe terapêutica. Designadamente, adicionar um bDMARD, de preferência um TNFi (combinado ou não com MTX), ou até um JAKi, após a avaliação do benefício-risco. Supondo que os fatores de prognóstico negativos estão ausentes e o doente não respondeu ao primeiro csDMARD, deve ser considerado outro csDMARD combinado com um GC de curto prazo e não um biológico (233).

Seguindo a mesma linha de raciocínio, se em ambos os casos, se verificar resposta à terapêutica num período de 6 meses, o doente deve continuar a cumprir o regime terapêutico e reduzir a dose, se for aplicável. Contudo, se o doente não responder à terapêutica de segunda linha, no caso de um bDMARD TNFi, deve ser considerado um biológico não TNFi, como o inibidor da IL-6 ou um inibidor da JAK (233). A prescrição dos JAKi está associada a algumas

restrições, visto que é necessário ter em conta fatores de risco cardiovasculares, como hipertensão, obesidade, diabetes, hábitos tabágicos, eventos tromboembólicos prévios e a idade (233).



**Figura 8.1-** Representação do algoritmo terapêutico recomendado pela EULAR de 2022 para o tratamento da Artrite Reumatóide (Adaptado de (233)). Legenda na página seguinte.

**Abreviaturas:** ACPA, Anticorpo anti-proteína citrulinada, bDMARDs, Fármacos antirreumáticos modificadores da doença biológicos; csDMARDs, Fármacos antirreumáticos modificadores da doença convencionais; MTX, Metotrexato; JAKi, Inibidor da Janus Quinase; RF, Fator Reumatóide.

1. Diagnóstico segundo os critérios de classificação de 2010 da ACR/EULAR.
2. Metotrexato deve ser considerado o fármaco de primeira linha. A escolha do Metotrexato como primeira opção não exclui a sua utilização com outros csDMARDs, apesar de não ser recomendada pela ACR/EULAR. No entanto, a combinação de csDMARDs está relacionada com o aparecimento de efeitos adversos que não justificam o benefício, principalmente, se o MTX for combinado com corticosteroides.
3. O objetivo do tratamento é a remissão clínica de acordo com as definições do ACR/EULAR ou, se for improvável a remissão, pelo menos uma baixa atividade da doença, o objetivo deve ser alcançado após 6 meses, mas a terapêutica deve ser adaptada ou alterada se for observada uma melhoria insuficiente (menos de 50% da atividade da doença) após 3 meses.
4. Remissão sustentada:  $\geq 6$  meses Índice ACR/EULAR baseado na remissão booleana.
5. Considerar as contra-indicações e os riscos. Inibidores do TNF (adalimumab, certolizumab, etanercept, golimumab, infliximab, incluindo biossimilares aprovados pela EMA/FDA), abatacept, inibidores da IL-6R ou rituximab (sob certas condições); em doentes que não podem utilizar csDMARDs como medicação, os inibidores da IL-6 e tsDMARDs têm algumas vantagens.
6. Os seguintes fatores de risco para eventos cardiovasculares e malignidades devem ser considerados quando se pretende prescrever um inibidor de JAK. Idade acima de 65 anos, história de tabagismo atual ou passado, outros fatores de risco cardiovascular (como diabetes, hipertensão e obesidade), outros fatores de risco para malignidade (histórico atual ou anterior de malignidade que não seja cancro da pele não melanoma tratado com sucesso) fatores de risco para acontecimentos tromboembólicos (risco de enfarte do miocárdio ou insuficiência cardíaca, cancro, distúrbios hereditários da coagulação sanguínea ou história de coágulos sanguíneos, bem como doentes a tomar contraceptivos hormonais combinados ou terapêutica de substituição hormonal, submetidos a grandes cirurgias ou imóveis.
7. A combinação mais frequentemente utilizada inclui metotrexato, sulfassalazina e hidroxicloriguina.
8. A redução da dose ou o aumento do intervalo podem ser efetuados com segurança com todos os bDMARDs e tsDMARDs com um risco reduzido de crises; a paragem está associada a taxas elevadas de crises; a maioria dos doentes, mas não todos, pode recuperar o seu bom estado após a reinstituição dos mesmos bDMARDs/tsDMARDs, mas antes disso os glucocorticóides devem ter sido descontinuados.
9. A eficácia e a segurança dos bDMARDs após a falha de um inibidor da JAK ainda não são totalmente conhecidas; também não se conhece a eficácia e a segurança de um inibidor da IL-6 após a falha de outro inibidor. Adicionalmente, a eficácia e a segurança de um inibidor da JAK após uma resposta insuficiente a um fármaco da mesma classe, não são conhecidas.

## 9. Novas abordagens terapêuticas

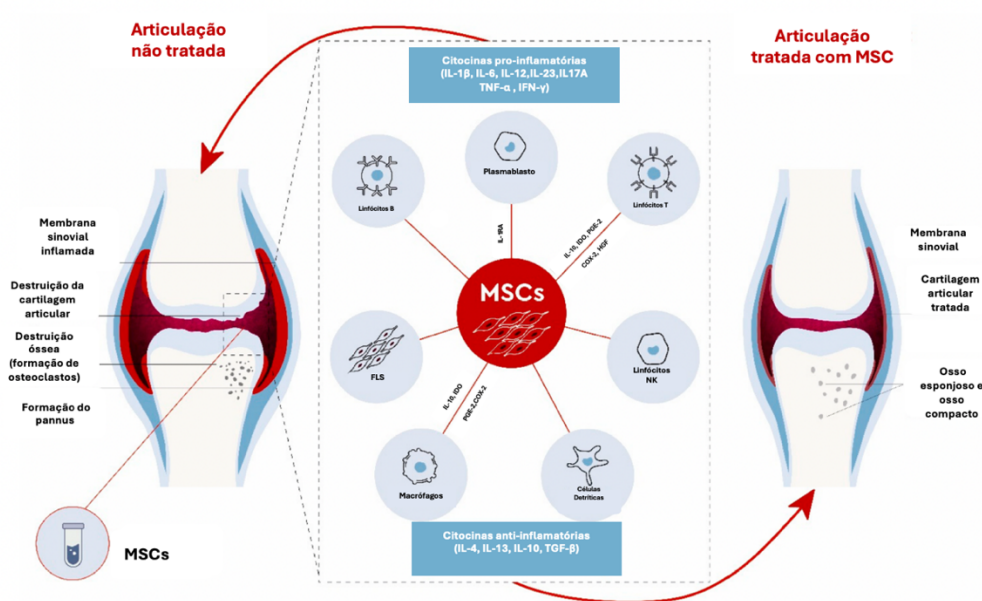
Nas últimas décadas, muitos fármacos têm sido desenvolvidos para o tratamento da AR, isto deve-se à descoberta dos mecanismos patológicos subjacentes, porém, a sua etiologia ainda permanece desconhecida. A abordagem terapêutica da AR tem evoluído ao longo dos anos, principalmente, pela consideração de 3 componentes fundamentais, como os critérios de diagnóstico precoce da ACR/EULAR de 2010, a abordagem T2T e por último, o acesso a terapêuticas dirigidas como os bDMARDs e mais recentemente, os tsDMARDs (250-251).

No entanto, ainda não existe nenhuma terapêutica eficaz no restabelecimento dos tecidos danificados. As terapias disponíveis apresentam diversos mecanismos de ação, exibindo propriedades imunomoduladoras, pela supressão de componentes do sistema imunitário e inibição de proteínas importantes nas vias inflamatórias da doença. E por isso, o sistema imunitário destes doentes fica comprometido, em que o aparecimento de efeitos adversos graves, como o reaparecimento de infecções e o risco de desenvolvimento de linfadenopatias, leva à interrupção da medicação em certos casos. Algo comum a estes doentes, é a persistência de sintomas, geralmente a dor, devido à destruição articular contínua. Todavia, estima-se que cerca de 20 a 40% dos doentes, não respondem às terapêuticas disponíveis (250). Assim, é necessário encontrar terapêuticas inovadoras, eficazes, seguras e acessíveis, de forma a proporcionar uma alternativa a doentes que sejam refratários às terapêuticas disponíveis. Cerca de 5 a 20% dos doentes são classificados como “resistentes”, “refratários” ou difíceis de tratar, sendo que esta classificação é atribuída a indivíduos que não respondem adequadamente à medicação, especificamente, com csDMARD e  $\geq 2$  b/tsDMARDs (com diferentes mecanismos de ação) (251). Por isso, a procura de novas terapias e abordagens terapêuticas no tratamento da AR, continua a constituir um problema emergente, em que atualmente, vários alvos celulares e novas vias de administração estão a ser estudados (251). Tendo em consideração, as inúmeras terapêuticas que estão a ser estudadas para o tratamento da AR, destaca-se a terapêutica com células estaminais mesenquimais (MSC), que tem demonstrado resultados promissores na redução da inflamação e regeneração da cartilagem (250).

Outros alvos promissores, são alvos epigenéticos, inibidores do GM-CSF, inibidores da via da quinase do 3-fosfatidilinositol (PI3K), inibidores da tirosina quinase de Bruton (BTK) e novos sistemas de administração de fármacos, utilizando nanopartículas.

## 9.1 Células estaminais mesenquimais

As células estaminais mesenquimais (MSC) são células não hematopoiéticas, multipotentes e podem ser encontradas na maioria dos tecidos adultos. Devido à sua capacidade de auto-renovação e diferenciação, apresentam propriedades regenerativas e imunomoduladoras, o que as torna uma abordagem interessante no tratamento de doenças autoimunes.<sup>(250,252)</sup> Estudos recentes, demonstraram que as MSCs têm a capacidade de alterar a resposta imunitária durante estados de inflamação crônica, através da regulação da função das células do sistema imunitário inato e adaptativo (252). Isto é possível mediante o ambiente inflamatório, pois as MSCs têm a capacidade de se polarizar e adquirir fenótipos pró-inflamatórios (MSC1) ou anti-inflamatórios (MSC2) (252). Não obstante, estas células têm a capacidade de diminuir os níveis de expressão de várias citocinas e quimiocinas inflamatórias, reduzir a proliferação de linfócitos T e B, suprimir a ativação dos linfócitos *natural killer* e a maturação de células dendríticas (Figura 9.1) (250,252,254).



**Figura 9.1**-Representação dos possíveis efeitos imunomoduladores das células estaminais mesenquimais (Adaptado de (252)).

**Abreviaturas:** COX, Cicloxigenase; HGF, Fator de crescimento dos hepatócitos; IDO, Indolamina-2,3-dioxigenase; IFN- $\gamma$ , Interferon gama; IL, Interleucina; NK, Natural killer; PEG-2, Prostaglandina E2; TGF- $\beta$ , Fator de transformação do crescimento beta.

Estas células podem ser extraídas do cordão umbilical, placenta, medula-óssea, fígado e pulmão fetais, cérebro e músculo esquelético. A fonte destas MSCs vai influenciar as

características, bem como o potencial de diferenciação das mesmas. As MSCs mais utilizadas, derivam da medula óssea, do tecido adiposo e do cordão umbilical (252).

O potencial terapêutico das MSCs tem sido demonstrado em estudos pré-clínicos, nomeadamente pela redução da inflamação, regeneração de tecidos e a imunomodulação em modelos animais, sendo que as MSCs da medula óssea foram utilizadas na maioria dos estudos.<sup>(252)</sup> Também se verificou que a administração de MSCs alogénicas é mais benéfica do que a administração de MSCs autólogas (252-253). Num estudo de Babaahmadi *et.al*, foi demonstrado que a aplicação de MSCs derivadas da medula óssea humanas em ratinhos do género feminino com artrite induzida por colagénio, reduziu o peso corporal, o inchaço da pata e a diminuição da pontuação da artrite (255). Para além disso, as imagens radiológicas e a avaliação histológica demonstraram os efeitos terapêuticos das MSCs. Também é importante mencionar que se verificou uma diminuição das citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 e TNF- $\alpha$ , em todos os grupos tratados com MSCs e um aumento das citocinas anti-inflamatórias IL-10 e do fator de transformação do crescimento beta (TGF- $\beta$ ) (255).

Noutro estudo, mas desta vez em 13 doentes diagnosticados com AR refratária, foi demonstrado que após uma injeção de MSCs autólogas derivadas da medula óssea autólogas, houve uma redução da pontuação DAS28 (de 5,56 para 4,72), após 12 meses do tratamento. Também se verificou um aumento dos níveis da IL-10 e TGF- $\beta$ , citocinas envolvidas na supressão de reposta imunológica em doenças autoimunes, como a AR, reforçando assim, a hipótese de que a terapia com MSCs tem efeitos imunomoduladores significativos em doentes com AR refratária (256). Porém, ainda não existem dados relativos à dose nem ao regime de administração, por isso, são necessários mais estudos para determinar estes parâmetros (256).

Dado que os efeitos terapêuticos das MSCs já estão confirmados pela evidência científica, é essencial desenvolver estratégias para aumentar o potencial das MSCs na aplicação clínica do tratamento da AR. Uma das principais vantagens do uso de células provenientes da medula óssea, é a criação de bancos de células com milhares de células derivadas de um único dador (252,255).

Existem algumas estratégias que podem ser desenvolvidas de forma a melhorar a eficácia desta terapia, nomeadamente a aplicação de MSCs combinadas com linfócitos Treg produtores de IL-10.<sup>(252)</sup> Adicionalmente, outra abordagem interessante é a exposição de MSCs em ambientes de hipoxia e estimulação de processos de autofagia, de forma a produzir efeitos imunomoduladores destas células (252). Outra estratégia promissora, é o *priming* das MSCs com citocinas pró-inflamatórias (252). Neste sentido, na presença de níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, as MSCs são ativadas e adquirem um fenótipo imunossupressor

MSC2, o que resulta na produção de mediadores anti-inflamatórios, tais como prostaglandina E2, Indolamina-2,3-dioxigenase, TGF- $\beta$  (252). No entanto, apesar da eficácia e segurança do uso desta terapia estar clinicamente comprovado, existem resultados contraditórios pela falta de standardização nos protocolos utilizados e a falta de compreensão biológica das MSCs, explicando assim, o atraso no uso clínico (250). Para além disso, a utilização das deste tipo de células apresenta algumas limitações, nomeadamente a heterogeneidade das MSCs resultante de variações entre dadores, a estabilidade das células, ambientes da cultura e a expansão limitada durante a preparação das MSCs (252,255,257). A maioria das MSCs utilizadas derivam da medula óssea, no entanto, a extração destas células é realizada através de um processo invasivo e doloroso, em que apenas 20 ml podem ser recolhidos a cada amostragem (250). Adicionalmente, a idade também é um fator importante, tendo em conta que a quantidade de MSCs diminui com a idade e por isso, é necessário que os dadores sejam jovens (250).

Outro problema está relacionado com a escolha do regime posológico, visto que, ainda não existe uma janela terapêutica bem definida e eficaz para as MSCs. Assim, os regimes de tratamento e os ajustes de dose devem ser estudados exaustivamente em futuros estudos clínicos. Com isto, a normalização destes protocolos deve focar-se no desenvolvimento de métodos de fabrico, fontes de MSCs, vias de administração, dose de células e análise sistemática dos resultados (252).

## 9.2 Alvos epigenéticos

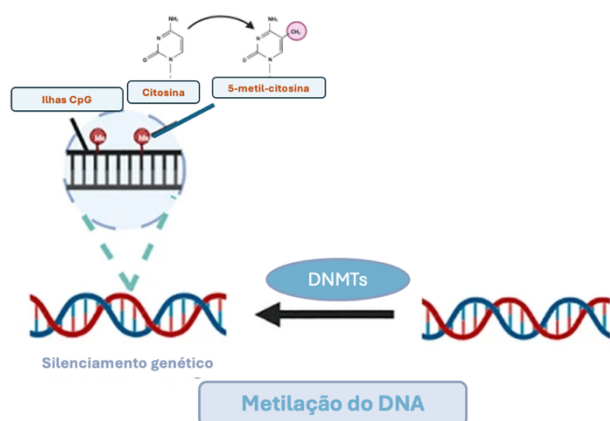
A epigenética compreende diversas alterações estáveis da expressão genética, com uma componente hereditária, sem provocar qualquer tipo de anomalia nos nucleótidos do DNA (77). As alterações epigenéticas constituem um ponto de ligação entre os fatores genéticos e ambientais, e são fundamentais à sobrevivência e adaptação das células (258). Por isso, sempre que haja alguma perturbação destes mecanismos, a expressão de genes pode ser afetada, ocorrendo um aumento ou diminuição da sua expressão. Neste sentido, estas alterações podem estar subjacentes ao desenvolvimento de várias doenças autoimunes como a AR. As alterações mais estudadas no contexto da AR são a modificação das histonas, a metilação do DNA e a modificação do RNA não codificante, especialmente os microRNA (258-259). Apesar de ainda não ser claro se todas estas modificações são provocadas pela doença ou se causam efetivamente a doença, estas alterações constituem um campo de investigação promissor, uma vez que são adquiridas ao longo de toda a vida, sendo consideradas um candidato ideal, de forma a, estabelecer uma ponte entre os fatores genéticos e ambientais e o risco de doença (77).

Para além disso, as alterações epigenéticas são reversíveis, em oposição à mutação genética.<sup>(259)</sup> Algo que as torna um possível alvo terapêutico, é a capacidade de alterar a resposta dos fibroblastos sinoviais e a resposta imunitária (259).

Existem várias evidências de que a epigenética desempenha uma função muito importante na organização do sistema imunitário e da resposta imunitária. Já foram detetadas alterações, ao nível da metilação do DNA e na expressão de miRNA, em linfócitos Treg de doentes com AR (77).

### 9.2.1 Metilação do DNA

A metilação do DNA é a modificação do DNA pós-replicação mais frequente nos mamíferos e, conseqüentemente, é também uma das modificações epigenéticas mais estudadas. Através das DNA metiltransferases ((DNMTs), o grupo metilo é covalentemente incorporado no quinto átomo de carbono da citosina para formar a 5-metilcitosina. Este mecanismo ocorre nas ilhas CpG, localizado na região promotora do gene, onde os dinucleótidos de guanina (CpG) estão agregados (Figura 9.2) (260, 261). A hipermetilação na região promotora está relacionada com o silenciamento ou a inativação de genes, enquanto a sua hipometilação ativa a atividade transcricional e promove a expressão genética (260). Em diversos estudos, foi demonstrado que a alteração mais comum nos FLS de doentes de AR, é o DNA genómico hipometilado.<sup>(258,260)</sup> Fenómeno que contribui para a alteração dos processos fisiológicos e patológicos, através do aumento da expressão de proteínas da matriz extracelular, fatores/recetores de crescimento, enzimas de degradação da matriz e moléculas de adesão (260).



**Figura 9.2-**Representação esquemática da metilação do DNA (Adaptado de (259, 261,263)).

**Abreviaturas:** DNMTs, DNA metiltransferases.

As DNMTs estão classificadas em três categorias, tendo em conta a sua estrutura e função, nomeadamente, DNMT1, DNMT3a e DNMT3b (260). A DNMT1 é responsável pela manutenção do estado de metilação e é necessária para a metilação *de novo* de sítios não-CpG através da DNMT3a e a DNMT3b. Estas enzimas são muito importantes no desenvolvimento embrionário, exercendo os seus efeitos durante esse processo (260).

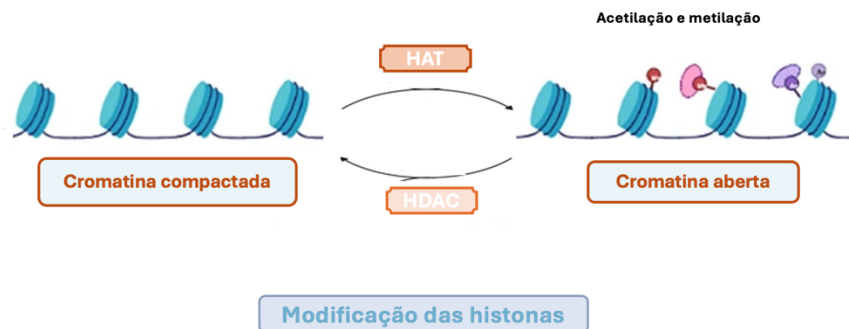
Relativamente às aplicações terapêuticas e às perspetivas da metilação do DNA, num estudo de Fu *et al.*, foi demonstrado que o promotor da IL-10, estava hipermetilado em quatro regiões diferentes do local CpG em doentes com AR, constituindo esta uma potencial razão para os níveis de IL-10 nestes doentes estar diminuído (262). Para além disso, também foi demonstrado que células mononucleares do sangue periférico tratadas com Azacitidina (inibidor da DNMT), estimularam a produção de IL-10 em níveis significativos, sugerindo assim, que a desmetilação mediada por Azacitidina do promotor da IL-10, pode reduzir a inflamação através do aumento da produção de IL-10.(261-262)

Por conseguinte, os inibidores das DNMTs têm sido propostos como potenciais medicamentos para a AR. Para além da Azacitidina, a decitabina, também demonstrou ser eficaz no aumento de linfócitos Treg e na diminuição de linfócitos Th1 e Th17 (264). Estes dois fármacos estão aprovados para o tratamento da leucemia mieloide aguda e outros tipos de neoplasias, e também já são utilizados no tratamento de condições inflamatórias da pancreatite (78).

No entanto, a relação entre a metilação do DNA e a ocorrência e o desenvolvimento da AR é complexa e necessita de mais investigação (264).

### **9.2.2 Modificação das histonas**

As histonas são proteínas que desempenham um papel muito importante na organização do núcleo do DNA e da sua estrutura, através da formação da cromatina (259,264). As histonas são sujeitas a modificações pós-traducionais, através da ubiquitinação, acetilação, metilação e a fosforilação, desacetilação, e a sumoilação (258). A modificação mais estudada é a acetilação das histonas, que é catalisada por duas enzimas: a histona acetiltransferase e a HDAC (Figura 9.3) (259). Está evidenciado que os níveis de HDACs estão aumentados nos tecidos sinoviais de doentes com AR, e por isso a inibição das mesmas pode levar à redução da inflamação (258).



**Figura 9.3-** Representação do processo de acetilação e desacetilação das histonas (Adaptado de (259,269)).

**Abreviaturas:** HAT, Histona acetiltransferase; HDAC, Histonas desacetilases.

A metilação das histonas ocorre principalmente nos resíduos de lisina e arginina das histonas H3 e H4. As histonas desacetilases estão divididas em duas classes, a classe I inclui HDAC1, HDAC2, HDAC3 e HDAC8, a classe II está dividida em duas, HDAC4, HDAC5, HDAC7, HDAC9 em IIA, e HDAC6 e HDAC10 em IIB (259).

Num estudo, verificou-se que a supressão da HDAC3 M192 era eficaz na supressão de fatores pró-inflamatórios nos fibroblastos sinoviais de doentes com AR, tornando-a um alvo potencial para a terapia dirigida da AR (265). Outro inibidor de HDAC de classe I e de classe II, a tricostatina A, exibiu resultados significativos na redução da IL-6 e TNF- $\alpha$  (264-266).

É importante realçar que nem todos os membros da família HDAC têm efeito pró-inflamatório. Foi demonstrado que a HDAC5 exerce uma ação anti-inflamatória nos FLS (78). Sugerindo assim, a aplicação de HDAC específicos, em vez de gerais, para o tratamento da AR. Atualmente existem quatro inibidores de HDAC aprovados pela FDA, Vorinostat, Romidepsin, Panobinostat, and Belinostat e são utilizados no tratamento do linfoma de células T (78). Verificou-se que o Vorinostat e o Entinostat (ainda não está aprovado), têm a capacidade de reprimir a via do fator nuclear kappa B nos fibroblastos sinoviais, regulando assim as citocinas inflamatórias (267). A inibição de HDAC pode ser uma opção promissora para o tratamento da AR, apesar de cada HDAC ter a capacidade de controlar genes diferentes e funções no FLS. Por isso, a inibição seletiva da HDAC pode melhorar a margem de segurança terapêutica. No entanto, é necessária mais investigação, de forma a compreender o papel das HDACs na patogénese da AR e os potenciais benefícios dos inibidores dos HDACs no tratamento da mesma, como também a avaliação dos seus efeitos adversos (258,261,268).

### 9.2.3 MicroRNA

Os miRNA são pequenas moléculas de RNA não codificantes com um comprimento aproximado de 22 nucleótidos, capazes de modular a expressão genética através do aumento da taxa de tradução ou da inibição da tradução e da degradação do mRNA (260). Os miRNAs desempenham um papel importante em muitos processos biológicos, principalmente no desenvolvimento do sistema imunitário e na subsequente regulação da imunidade, tanto inata como adquirida (78). Presentemente, já foram identificados mais de 100 miRNAs, que podem estar envolvidos na alteração dos processos de desenvolvimento das células imunitárias e na regulação das suas funções (78). Estas pequenas moléculas, estão envolvidas na regulação de aproximadamente, 30% de todos os padrões de expressão e tradução de genes importantes para os processos de proliferação celular, diferenciação, metabolismo, inflamação e apoptose (260). O papel dos miRNA no processo inflamatório inclui tanto, o controlo da produção de citocinas como a proteção do tecido cartilágneo através da regulação da atividade metabólica, da proliferação e da resistência à apoptose (78). Adicionalmente, os miRNAs estão presentes em fluidos extracelulares, como o soro, o plasma e o líquido sinovial, e podem ser transportados para outras células e tecidos alvo através da circulação. Esta particularidade, permite que os miRNAs atuem como moléculas de sinalização na comunicação intercelular, potenciando a sua utilização como biomarcadores (78,260,270).

Apesar de determinados fatores genéticos serem reconhecidos como um fator de risco na AR, continuam a ser revelados novos genes e mutações que estão implicadas na patogénese da doença, sendo que a descoberta dos miRNA é uma delas. Inúmeros estudos, indicam que a desregulação da expressão de miRNA, tem influência nos mecanismos de regulação imunitária, estimulação das vias de sinalização pró-inflamatórias, e à produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias (270).

A aplicação terapêutica dos miRNA, baseia-se na premissa de que a expressão anómala poderá estar envolvida nos processos de inflamação e autoimunidade (271). Logo, o restabelecimento da função do miRNA e/ou a estimulação dos miRNA que se encontram diminuídos, pode ser utilizado como uma nova estratégia para o tratamento da AR (271).

Por isso, a terapêutica com miRNA centra-se em 2 princípios: mímicos e antimimicos (também conhecidos como inibidores de miRNA). Nos mímicos, o design da molécula consiste na conceção de pequenos RNAs artificiais de cadeia dupla que vão ser análogos das sequências de miRNA correspondentes. Em contrapartida, os inibidores são de cadeia simples e têm como alvo os miRNAs (271).

Uma grande vantagem da terapêutica à base de mRNA é o seu potencial de expressão de proteínas devido à sua tradução contínua, resultando num processo prolongado, quando comparado com os fármacos tradicionais à base de proteínas/peptídeos (272).

Para além disso, o interesse da utilização dos miRNA como biomarcadores promissores, advém do seu perfil de expressão específico que pode estar associado ao desenvolvimento de diversas patologias como também, ser um indicador da sua progressão, gravidade, e de resposta aos tratamentos. Como os miRNA podem ser encontrados em diversos fluidos, podem ser detetados através de técnicas simples (271).

Através de um estudo conduzido por Duroux-Richard *et al.*, foi demonstrado que a sobre-expressão de miR-125b estava diretamente relacionado com uma maior atividade da AR e uma boa resposta ao tratamento com rituximab (273). Por isso, este miRNA pode ser uma ferramenta importante na previsão da eficácia do tratamento (272).

Também foi demonstrado que após a terapia anti-TNF, diversos miRNAs como o miRNA-23-3p, o miRNA-16-5p, o miRNA125b-5p, o miRNA-146a-5P, o miRNA-126-3p e o miRNA-223-3p, estavam significativamente supra-regulados (264). Sendo que, isto só se verificou em doentes que responderam positivamente a este tratamento. Consequentemente, estes doentes apresentaram uma diminuição nos valores de PCR, FR, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-17 (264).

Dentro desta família, os miRNAs mais estudados na AR são o miRNA-146 e o miRNA-155, dado que estão implicados na regulação da via do NF- $\kappa$ B, um mediador essencial da inflamação e, para além disso, a sua expressão nos tecidos sinoviais encontra-se anormal (270). Neste sentido, o miRNA-155 encontra-se sobre-expresso nos FLS, principalmente quando estes são estimulados pelo TNF- $\alpha$  (274). O miRNA-155 também estimula a secreção de citocinas inflamatórias nos FLS e reprime a expressão da metaloproteinases de matriz 3 e da metaloproteinases de matriz 1, inibindo a destruição articular, desempenhando um papel protetor.<sup>(271)</sup> Tal como o miRNA-155, a expressão do miRNA-146a encontra-se aumentada nos FLS, monócitos, macrófagos de doentes com AR, resultando num aumento dos níveis de TNF- $\alpha$  no sangue periférico (275). O miRNA-146a desempenha um papel importante na supressão dos linfócitos Treg e na inibição das respostas Th1, fatores críticos na indução e manutenção da inflamação (275).

Neste sentido, existe evidência de que os miRNAs estão envolvidos em diversos mecanismos patológicos na AR e por isso, constituem uma opção terapêutica com potencial. No entanto, ainda existe um longo caminho a percorrer até à aplicação clínica, havendo alguns obstáculos que precisam de ser ultrapassados (276). Obstáculos estes, que se centram em dois

princípios: (I) A compreensão abrangente da função dos vários miRNAs, de forma a selecionar aquele que possui a melhor eficácia, como também o conhecimento da sua ação fisiológica, nomeadamente sobre as possíveis ações antagonistas ou agonistas. O segundo consiste no desenvolvimento de veículos de miRNA otimizados que permitam uma segmentação específica dos tecidos ou das células. Isto deve-se, aos miRNA apresentam uma fraca bioestabilidade, devido ao seu tamanho molecular e forte carga aniônica e por isso, não conseguem atravessar a membrana plasmática (276). Para além disso, ainda é necessário averiguar a segurança e eficácia desta terapia (271,276).

### 9.3 Inibidores do Fator Estimulador de Colónias de Macrófagos

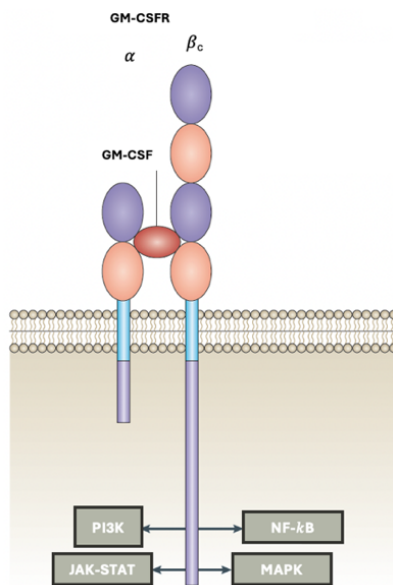
O fator estimulador de colónias de macrófagos (GM-CSF) é um fator de crescimento hematopoético, responsável pela estimulação da proliferação de granulócitos e macrófagos a partir de células precursoras da medula óssea (277). Para além do seu papel hematopoético bem conhecido, o GM-CSF está envolvido em diversos processos biológicos tanto na imunidade inata, como na adaptativa (277). Esta citocina hematopoética, também está envolvida na ativação de células imunitárias como macrófagos, células dendríticas e linfócitos, e estimula a produção do TNF, da IL-1 e da IL-6, citocinas pró-inflamatórias tipicamente envolvidas na fisiopatologia da AR (278).

Apesar do papel do GM-CSF na patogénese da AR ainda não ser claro, sabe-se que os níveis de GM-CSF e dos seus recetores estão aumentados no fluido sinovial, no plasma e nos sinoviócitos de doentes com AR (277-279). Atendendo ao seu mecanismo, o GM-CSF atua através da ligação ao seu recetor heterodimérico, composto por uma cadeia  $\alpha$  e uma cadeia  $\beta$ . Após a ligação do GM-CSF ao seu recetor, o sinal é lido principalmente através da via JAK-2/STAT, mas também através das vias da proteína quinase ativada por mitogénio, do NF- $\kappa$ B e da quinase do 3-fosfatidilinositol (PI3K) (Figura 9.4) (280).

Tendo em consideração o papel do GM-CSF na AR, a inibição do GM-CSF pode interferir com a produção de macrófagos, e inibir a cascata inflamatória, resultando na diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias e assim proporcionar benefícios clínicos na AR (280).

Entre os fármacos em desenvolvimento, o mavrilimumab e o otilimab tem demonstrado resultados promissores em diversos ensaios clínicos (281,282). O mavrilimumab é um anticorpo monoclonal IgG4 humano de alta afinidade para a região  $\alpha$  do recetor GM-CSF e é um antagonista competitivo da sinalização do GM-CSF (280). Foi o primeiro fármaco

desenvolvido desta classe e tem exibido eficácia em diversos estudos clínicos de fase I, IIa e IIb (282).



**Figura 9.4** - Estrutura do recetor do fator estimulador de colónias de macrófagos (Adaptado de (277)).

**Abreviaturas:** GM-CSF, Fator estimulador de colónias de macrófagos; GM-CSFR, Recetor do fator estimulador de colónias de macrófagos MAPK, Proteína quinase ativada por mitogénio; NF-κB, Fator nuclear kappa B; PI3, Quinase do 3-fosfatidilinositol.

Num estudo de fase IIa de Brumster *et al.*, dos 233 doentes com AR ativa moderada e em terapia com MTX há pelo menos 3 meses, 158 receberam diferentes doses de mavrilimumab SC (10, 30, 50 e 100mg) e 75 foram tratados com placebo (283). Na décima segunda semana após tratamento, 55,7% dos doentes que tinham recebido mavrilimumab, demonstraram uma redução superior a 1,2 pontos da DAS28-PCR em comparação com o placebo (283). A dose de 100mg exibiu uma melhor resposta ACR20 comparativamente à do placebo (283). Para além disso, não foram reportados efeitos adversos significativos (283).

Noutro estudo de fase IIb, 326 doentes com AR ativa e com resposta inadequada a  $\geq 1$  csDMARD, receberam doses de 30, 100, 150mg de mavrilimumab SC de duas em duas semanas, durante 6 meses (24 semanas) (284). Após a primeira semana, verificou-se uma diminuição do número de articulações inchadas, na contagem de articulações sensíveis, da dor, e dos níveis de VS e PCR (284). À semelhança do estudo anterior, o mavrilimumab diminuiu significativamente as pontuações do DAS28-PCR na décima segunda semana pós-tratamento (284). Na vigésima quarta semana, os doentes que receberam a dose de 150mg obtiveram uma melhor resposta ACR20 em comparação com o placebo. Adicionalmente, as taxas de remissão

DAS28-PCR (<2,6) também foram significativas com mavrilimumab 150mg, em comparação com o placebo na 12<sup>a</sup> semana, e em todas as doses de mavrilimumab comparativamente ao placebo na 24<sup>a</sup> semana (284).

Relativamente ao perfil de segurança deste fármaco, os ensaios clínicos não destacaram questões de segurança ou toxicidades específicas, sendo que, os efeitos adversos observados foram considerados com gravidade ligeira a moderada (285). No estudo de fase I, os efeitos adversos mais comuns foram a nasofaringite, dor de cabeça, diarreia e dor nas costas (285).

Os dados disponíveis sobre o mavrilimumab, no que respeita ao seu mecanismo de ação, resultados de ensaios clínicos, eficácia, segurança e rapidez de resposta são encorajadores e fundamentam a realização de ensaios de fase III, com um potencial posicionamento na AR moderada a grave com resposta insuficiente anterior ao MTX e, em particular, aos TNFs (284).

Já o otilimab, também conhecido por MOR-103, atua diretamente no recetor do GM-CSF, é um anticorpo IgG1 humano recombinante de alta afinidade que se liga a um epítipo do GM-CSF, bloqueando assim a interação citocina-recetor e a sua ativação (286). Através de um estudo Ib/IIa, verificou-se que houve uma diminuição da pontuação DAS28 com o otilimab em comparação com o placebo. Os efeitos adversos manifestados foram ligeiros a moderados.<sup>(286)</sup>

Num estudo de fase IIb, o otilimab foi administrado concomitante com o MTX, uma vez por semana durante cinco semanas e, subsequentemente de duas em duas semanas até à semana 50 (287). As doses foram distribuídas aleatoriamente por placebo subcutâneo ou otilimab 22,5mg, 45mg, 90mg, 135mg ou 180mg. A dose mais elevada de otilimab (180 mg) mostrou uma resposta ACR20 significativamente mais elevada, em comparação com o placebo (287). No entanto, apesar do otilimab não ter atingido o objetivo primário de remissão do DAS28-PCR, verificou-se uma melhoria em diversos parâmetros relatados pelos doentes, como a diminuição da dor e do cansaço (287). Tendo por base estes resultados, a terapia anti-GM-CSF para além de diminuir a atividade da doença, pode ter efeitos significativos na redução da dor e no aumento da função dos doentes com AR.

Em dois estudos de fase III, a eficácia do otilimab foi comparada com o tofacitinib em doentes com resposta inadequada ao MTX ou outros csDMARDs e bDMARDs (288). Os participantes dos dois ensaios receberam duas doses (90 mg ou 150mg) de otilimab por via SC semanalmente e tofacitinib ou placebo duas vezes por dia. No primeiro ensaio, aos doentes que não receberam otilimab foi-lhes administrado tofacitinib 5mg e MTX, no segundo ensaio, o MTX foi substituído por outro csDMARD.<sup>(288)</sup> No primeiro ensaio, os doentes que receberam otilimab apresentaram uma resposta ACR20 significativamente superior ao placebo, com taxas de 54,7% e 50,9%, em ambas as doses *versus* 42,9% do placebo. Estes resultados são

equiparáveis aos do segundo ensaio, apesar de não se ter verificado uma diferença significativa entre as doses (54,9% e 54,5%), os resultados do placebo foram inferiores (32,5%) (288). Adicionalmente, a dose de 90mg proporcionou uma diminuição da atividade da doença no CDAI numa porção significativa dos doentes, no entanto a dose de 150mg não foi capaz de atingir estes resultados no primeiro ensaio (288). Contudo, os resultados do tofacitinib foram consistentemente superiores aos do otilimab em vários parâmetros (288).

Por último, o estudo mais recente, comparou a eficácia do otilimab com o sarilumab (inibidor da IL-6) em 549 doentes com reposta inadequada a pelo menos um bDMARD ou tsDMARD. Estes doentes receberam otilimab SC (90 ou 150mg uma vez por semana), sarilumab SC (200mg de 2 em 2 semanas) ou placebo durante 12 semanas, em simultâneo com csDMARDs. Todavia, o otilimab não foi capaz de apresentar resultados superiores ao grupo de placebo, e não demonstrou superioridade ao sarilumab neste ensaio (281).

Com base nos resultados dos últimos ensaios, o otilimab não demonstrou ser superior ao JAKi nem ao inibidor da IL-6, logo é pouco provável que o otilimab seja uma adição valiosa ao atual arsenal terapêutico para a AR, apesar de apresentar um perfil de segurança razoável (281).

Apesar destes resultados, estão a decorrer estudos de novos fármacos desta classe, que tal como o mavrilimumab, revelam que a inibição da atividade do GM-CSF pode constituir uma opção terapêutica associada a poucos riscos, quando os fármacos disponíveis não são eficazes no controlo da patologia (280).

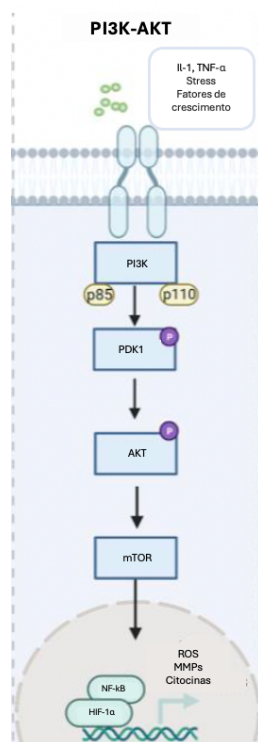
#### **9.4 Inibidores da via da quinase do 3-fosfatidilinositol**

A PI3K representa uma família de quinases lipídicas que fosforilam os fosfoinosítídeos. Estas quinases estão compreendidas em 3 classes, dependendo da sua homologia de sequência e especificidade de substrato. No entanto, as PI3K de classe I são as mais estudadas, nomeadamente a PI3KC1 $\delta$  e a PI3KC1 $\gamma$ , que apresentam ser um alvo promissor no tratamento de doenças inflamatórias (289).

Para que a via PI3K seja ativada, é necessária a ligação da proteína quinase B (AKT) (Figura 9.5). Esta via intracelular é crucial na regulação da proliferação, do metabolismo, da angiogénese e da sobrevivência celular em resposta a sinais extracelulares (264). O papel desta via na patogénese da AR está evidenciado (264). A elevada expressão de PI3K no tecido sinovial de doentes com AR pode ser responsável pela proliferação anormal dos FLS e pela estimulação da inflamação sinovial, através do aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6, IL-17, IL-21, IL-22 e TNF- $\alpha$  (264). Para além disso, esta via

também vai estimular a produção e diferenciação de osteoclastos, provocando assim migração dos mesmos (290).

Adicionalmente, sabe-se que o PI3K/AKT atua nos FLS, inibindo a sua autofagia através da proteína alvo da rapamicina dos mamíferos (mTOR) (290). Ademais a via PI3K/AKT/mTOR, também promove a proliferação contínua e anormal de células sinoviais, e também é determinante na sobrevivência e diferenciação dos osteoclastos (264). O papel da via PI3K/AKT/mTOR está bem evidenciado na patogênese de vários cânceros, principalmente no câncer da mama (291-292). E por isso, já existem vários fármacos desta classe a serem estudados, em ensaios clínicos, sendo que alguns já são utilizados na prática clínica, como é exemplo o apelisib (291-292). Porém, a incidência de efeitos secundários como, hipertensão, hepatotoxicidade, hiperglicemia e *rash* cutâneos, constituem um obstáculo importante ao desenvolvimento dos inibidores da PI3K (291).



**Figura 9.5**-Representação da via de sinalização quinase do 3-fosfatidilinositol/proteína quinase B (PI3K/AKT) (Adaptado de (258)).

**Abreviaturas:** **AKT**, Proteína quinase B; **HIF-1α**, Fator induzível por hipoxia 1α; **IL**, Interleucina; **MMPs**, Metaloproteinases da matriz; **mTOR**, Proteína alvo da rapamicina dos mamíferos; **NF-κB**, Fator nuclear kappa B; **PDK1**, Quinase I dependente de fosfoinositídeo; **ROS**, Espécies reativas de oxigênio; **TNF-α**, Fator de necrose tumoral alfa.

No entanto, o estudo do potencial destes alvos ainda está no início, visto que, ainda só existem dados de estudos pré-clínicos da utilização dos inibidores da PI3K na AR. Num ensaio

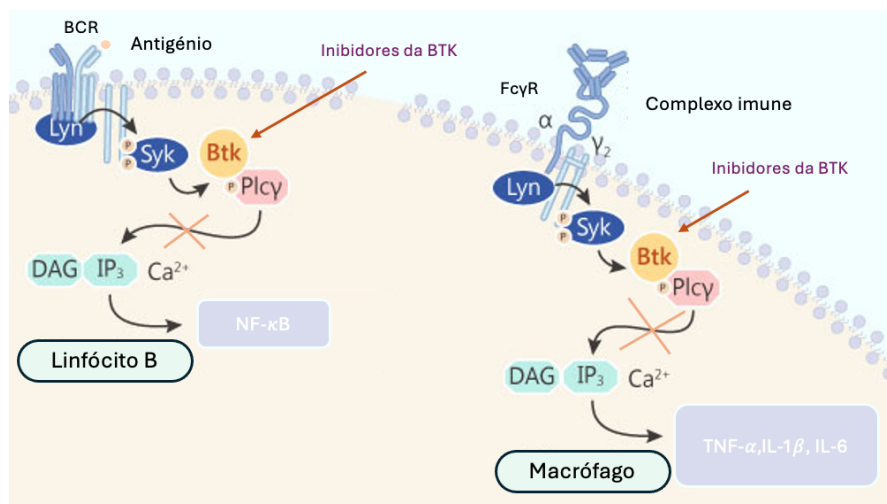
pré-clínico de Patel, *et.al.*, a molécula GS9901, um inibidor seletivo oral da PI3K $\delta$ , revelou ser eficaz na redução da formação de *pannus* e na inibição da lesão articular, em ratinhos com artrite induzida por colagénio (293). Outra molécula, PBT-6, um inibidor da PI3KC2 $\gamma$ , demonstrou ser eficaz na inibição da expressão de macrófagos e de FLS induzidos pelo TNF- $\alpha$ , em ratinhos com artrite induzida por colagénio (289). Como os macrófagos são as células responsáveis pelo aumento da expressão de citocinas, mediadores pró-inflamatórios, a sua inibição implicaria uma redução da inflamação, infiltração e uma redução da destruição articular, tornando o PI3K um alvo promissor na terapêutica da AR (289).

### 9.5 Inibidores da tirosina quinase de Bruton

Como descrito anteriormente, a AR é uma doença crónica sistémica de carácter autoimune, sistémica, em que a desregulação da proliferação de linfócitos T e B está implicada. Este fenómeno, vai conduzir à produção de autoanticorpos e citocinas inflamatórias através da via sinalização do recetor de antigénio dos linfócitos B (BCR), promovendo assim a progressão da AR (264).

A BTK é uma quinase intracelular, pertence à família das TEC quinase e é expressa nas células hematopoiéticas como os linfócitos B, os mastócitos e as células mielóides, com a exceção dos linfócitos T e linfócitos *natural killer*. (294). A BTK desempenha um papel importante em diversas via de sinalização, incluindo a via de sinalização do BCR e a via de sinalização do recetor Fc $\gamma$  (295). Adicionalmente, está envolvida na sobrevivência, proliferação, ativação e a diferenciação das células imunitárias, bem como na produção de citocinas (294).

Atendendo ao seu mecanismo de ação fisiológico, a BTK participa em três vias independentes (Figura 9.6). Estas vias incluem: I) ativação dos linfócitos B através da via de sinalização do BCR; II) ativação de monócitos e macrófagos induzida pelo complexo imune através da via de sinalização do recetor Fc $\gamma$ , que vai estimular a produção de citocinas inflamatórias, nomeadamente, a IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ . E por último a (III) está envolvida na reabsorção óssea pela ativação do RANK, que por sua vez estimula a proliferação e diferenciação de osteoclastos, um dos principais fatores que contribuem para a fisiopatologia da AR (296). E por isso, a inibição da BTK nos linfócitos B, leva à inibição das 3 vias mencionadas. Isto resulta na interrupção de sinais quimiotáticos essenciais para a sobrevivência, migração e proliferação de linfócitos B, e uma subsequente redução na produção de citocinas inflamatórias a partir de células mielóides (296-297).



**Figura 9.6**-Mecanismo de ação dos inibidores da tirosina quinase de Bruton (Adaptado de (298-299)). Nesta figura estão representadas duas vias independentes da BTK, a 1) a ativação das células B através da via de sinalização do recetor de células B (BCR); 2) a ativação de monócitos e macrófagos através da via de sinalização do recetor Fc $\gamma$ , que conduz à produção de citocinas inflamatórias. O primeiro mecanismo é desencadeado após a ligação do antígeno ao BCR, a BTK é ativada conduzindo à sinalização da fosfolipase-C $\gamma$  (PLC- $\gamma$ ), resultando na ativação da via do NF- $\kappa$ B, o que vai provocar alterações transcricionais essenciais à proliferação e diferenciação dos linfócitos B. No segundo, a ativação da BTK nos macrófagos e monócitos resulta da ligação do complexo imune ao recetor Fc $\gamma$  e das tirosinas quinases Lyn e Syk, e através da sinalização da PLC- $\gamma$ , a expressão de citocinas inflamatórias (nomeadamente interleucina (IL)-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  é ativada (296).

**Abreviaturas:** BCR, Recetor de antígeno dos linfócitos B; BTK, Tirosina quinase de Bruton; Ca<sup>2+</sup>, Cálcio; DAG, Diacilglicerol; Ip<sub>3</sub>, Inositol 1,4,5-trifosfato; IL, Interleucina; Lyn, Tirosina quinase Lyn; PLC- $\gamma$ , Fosfolipase-C $\gamma$ ; Syk, Tirosina quinase Syk; TNF- $\alpha$ , Fator de necrose tumoral alfa.

Inicialmente, os moduladores da sinalização das células B surgiram no contexto oncológico, no entanto, como os linfócitos B estão envolvidos na patogénese de diversas doenças autoimunes como a AR, esclerose múltipla, lúpus entre outras, a inibição da atividade da BTK tornou-se um alvo terapêutico interessante (298). Os linfócitos B desempenham um papel central na patogénese da AR, devido à sua capacidade de produção de autoanticorpos, apresentarem-se como autoantígenos, de segregar citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias e de orquestrar a formação de tecidos linfoides terciários (298). Posto isto, a inibição destas células revela uma abordagem eficaz no tratamento da AR, como é o caso do rituximab. Os dados clínicos relativamente ao rituximab comprovam que os efeitos deste anticorpo nos linfócitos B estão correlacionados com a resposta clínica em doentes com AR (297). Posto isto, os fármacos adicionais que visam as vias das células B, incluindo os inibidores da BTK, podem desempenhar um papel importante como terapêutica alternativa ou adjuvantes no tratamento da AR (295).

No entanto, a BTK pertence à família de quinases de tirosina TEC, e ao partilhar um domínio conservado com outros membros da família, dificulta o *design* da molécula inibidora, de forma a ser específica para a BTK (300). Atualmente, estão disponíveis 5 fármacos inibidores irreversíveis da BTK (ibrutinib, acalabrutinib, zanubrutinib, orelabrutinib,

tirabrutinib), os reversíveis estão a ser submetidos a investigações pré-clínicas e clínicas, principalmente para o tratamento a longo prazo de doenças autoimunes, especialmente AR e esclerose múltipla (301). Os fármacos irreversíveis, como o ibrutinib ligam-se covalentemente à cisteína-481 no local ativo, o que representa um risco de seletividade, uma vez que 10 outras quinases humanas possuem um resíduo de cisteína equivalente no seu sítio ativo, resultando na inibição de várias quinases “fora do alvo” em doses terapêuticas (302). Para além disso, 60% dos doentes tratados com ibrutinib apresentam resistência ao tratamento, uma vez que a cisteína na posição 481 da proteína BTK sofre uma mutação para serina (301).

O ibrutinib foi o primeiro inibidor de BTK aprovado pela FDA no tratamento de certos linfomas e leucemias (296). Porém, a sua ampla atividade inibitória em toda a família TEC e noutras tirosina-quinases, impediu o seu desenvolvimento no tratamento de doenças autoimunes e inflamatórias (296). A utilização de vários inibidores irreversíveis de segunda geração na AR está a ser estudada em ensaios clínicos, como é o caso do tirabrutinib (ONO/GS-4059), um inibidor duplo da BTK e da TEC, ainda em estudos de fase I, spebrutinib, evobrutinib e fenebrutinib que se encontram em estudos de fase II (296).

O spebrutinib (CC-292) foi o primeiro inibidor irreversível de segunda geração a ser estudado no contexto AR (297). Apesar de ter demonstrado resultados promissores na inibição da diferenciação dos osteoclastos a partir de células da linhagem mielóide, em estudos de fase I, e num estudo clínico (301,303). No entanto, num estudo de fase IIa em combinação com MTX, os resultados apresentados não foram estatisticamente significativos, tendo em conta que a população em estudo era pequena (47 participantes) (304).

Num ensaio de fase IIb, várias doses de evobrutinib foram administradas a 309 doentes que não responderam ao tratamento com MTX (305). Contudo, não se observou um efeito dose-resposta, e o evobrutinib não atingiu a resposta ACR20 (305). Demonstrando resultados contraditórios, quando comparado com um estudo de fase IIa, em que 55,2% dos doentes obtiveram uma resposta ACR20 e uma diminuição da pontuação DAS28-PCR (296).

Já o fenebrutinib, é um inibidor BTK altamente seletivo, reversível que demonstrou atividade dose-dependente num modelo in vivo de artrite inflamatória em ratinhos. Demonstrando um perfil de ação único, quando comparado com outros inibidores, apresentado um melhor perfil de segurança, por não exercer efeito noutras quinases da mesma família (294).

De forma a avaliar a eficácia do fenebrutinib foi realizado um estudo de fase II com 480 doentes com AR RF positiva ativa moderada a severa, com MTX como terapia de base (resposta inadequada) e com uma resposta inadequada a pelo menos um inibidor TNF (306). Dos 480

doentes em estudo, alguns uns receberam doses diferentes de fenebrutinib, outros receberam uma injeção semanal de adalimumab e os restantes foram sujeitos a placebo. Os grupos que receberam as doses de 150mg e 200mg de fenebrutinib, apresentaram uma eficácia superior em comparação ao placebo (306). Para além disso, as respostas demonstradas pelo fenebrutinib foram semelhantes às observadas com adalimumab, tendo sido igualmente demonstrada atividade em doentes refratários a outras terapias, além do MTX (306).

Apesar de o fenebrutinib apresentar um perfil de segurança aceitável, ainda é necessário realizar mais estudos, de forma a obter dados mais robustos em relação ao seu perfil de tratamento a longo prazo e à sua eficácia para além de 3 meses. Tendo em conta estes resultados, é necessário uma avaliação adicional do fenebrutinib em doentes com AR refratária a DMARDs biológicos, a fim de, suportar a premissa de que o tratamento com inibidores da BTK constitui uma opção em doentes que apresentam uma resposta inadequada ao MTX e aos TNFis (306).

Uma das limitações que os inibidores irreversíveis apresentam é a ligação covalente ao resíduo de cisteína-481 no local de ligação ao ATP da BTK, uma vez que muitas outras quinases humanas têm um resíduo de cisteína semelhante no seu local de ligação ativo, aumentando o risco de efeitos fora do alvo, e um conseqüente problema de segurança (294). Em contrapartida, fenebrutinib provocou alterações nos biomarcadores dos linfócitos B e das células mielóides, consistentes com o mecanismo de ação duplo ideal proposto de um inibidor da BTK capaz de inibir a sinalização das células B e do recetor Fcγ (306).

Os dados dos estudos pré-clínicos levantam algumas questões que são importantes na otimização do benefício clínico desta classe de fármacos. Sendo uma delas, a utilização de inibidores da BTK na fase inicial da doença, visto que, a BTK desempenha um papel crucial na diferenciação dos linfócitos B. Este fenómeno sugere que a inibição da BTK pode ser mais relevante nas fases iniciais da doença, quando os autoanticorpos se estão a desenvolver, do que nas fases mais avançadas da artrite. Adicionalmente, os estudos clínicos de fase I e II até à data têm sido de curta duração e aplicados a amostras relativamente pequenas, constituindo este um fator limitador na identificação de efeitos positivos, o que pode subestimar os potenciais efeitos retardados do tratamento. Neste sentido, são necessários ensaios adicionais, para preencher estas lacunas, e para ajudar a determinar se a inibição da BTK pode ser útil num subconjunto de doentes com AR, ou talvez eficaz em combinação com outras terapias (296).

## 9.6 Novos sistemas de administração de fármacos

Apesar das terapêuticas convencionais e o acesso a novos fármacos biológicos serem eficazes no controlo da doença, em certa medida, existe um elevado risco de efeitos secundários, relacionados com a dose e com a distribuição (307). Devido à falta de especificidade de alguns fármacos, em relação aos órgãos/tecidos afetados pela AR, o aparecimento de efeitos extra-articulares é bastante comum (308). Para fazer face a estas limitações, estão a ser desenvolvidos novos sistemas de administração de fármacos, utilizando a nanotecnologia. Uma das grandes vantagens do uso de nanopartículas é a sua especificidade para com o alvo. A possibilidade de solubilizar fármacos pouco solúveis, um perfil seguro, uma maior eficácia e uma melhor distribuição consistem noutras particularidades que contribuem igualmente para o potencial terapêutico deste sistema de veiculação (307-308).

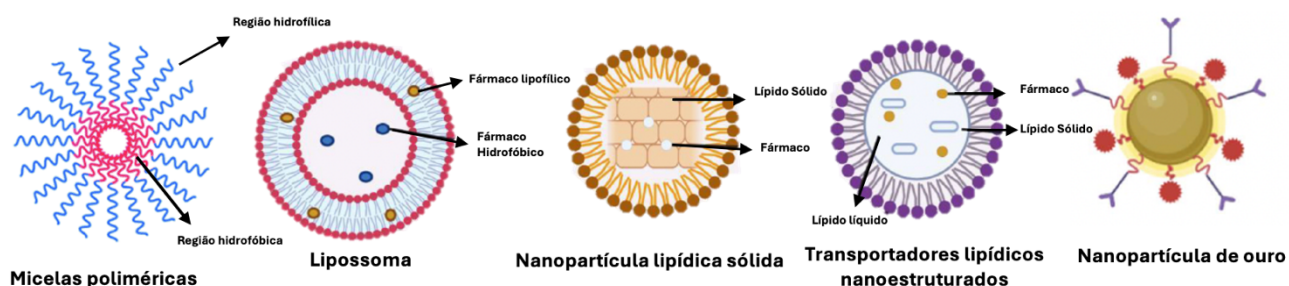
Os sistemas de administração de fármacos nano particulados são uma abordagem promissora devido ao seu tamanho, que facilita a administração do fármaco, e o aumento da sua estabilidade do fármaco através de técnicas de encapsulação (309). Isto, vai aumentar a sua solubilidade e a sua semi-vida. A utilização de nanomateriais permite um tratamento direcionado, através de transporte do fármaco de uma forma ativa ou passiva, libertação controlada e a capacidade de solubilizar substâncias hidrofóbicas (309).

Na AR, a vasculatura encontra-se muito permeável devido aos mediadores inflamatórios, o que provoca um aumento de 6 a 40 vezes da permeabilidade da barreira hemato-articular (307). E por isso, as fugas encontradas nestes tecidos, podem ser utilizadas como uma via de administração seletiva de fármacos (307). A abordagem passiva baseia-se no aumento da permeação e da retenção, sem a utilização de uma porção específica de direcionamento na superfície da nanopartícula. Como os tecidos inflamados sofreram alterações anatómicas e fisiológicas, devido ao estado de inflamação, estes fármacos conseguem ultrapassar a membrana do tecido por difusão passiva, nos locais onde estão as lesões, provocando o extravasamento de leucócitos e a retenção de nanopartículas (307). Neste sentido, a acumulação de nanopartículas, em articulações inflamadas, pode melhorar a ação anti-inflamatória, evitando a administração de doses elevadas e reduzindo, assim, os efeitos fora do alvo de vários medicamentos (309). Os sistemas coloidais de administração de fármacos, como os lipossomas, as nanopartículas, as micelas e os conjugados macromolécula-fármaco, podem ser utilizados na acumulação passiva de fármacos no interior do *pannus* (310).

Já o princípio do alvo ativo, tem por base a modificação da superfície das partículas transportadoras com os ligandos de reconhecimento específico (de acordo com o alvo pretendido), que se vão ligar a recetores de células que estão presentes no líquido sinovial. As

principais células-alvo desta abordagem são os macrófagos e os FLS, que se encontram sobre expressos no líquido sinovial dos doentes com AR (311). Estas células apresentam uma elevação da expressão dos seus recetores de membrana ou dos níveis de proteínas de superfície no seu exterior, como o CD44, o recetor de folato e a integrina (310-311). Através da ligação das nanopartículas transportadoras a estes recetores de superfície, o fármaco consegue entrar dentro da célula. A libertação do fármaco do seu veículo pode ocorrer na superfície da célula, na matriz extracelular ou através das enzimas líticas e digestivas existentes nos organelos lisossomais, garantindo assim, a entrega do fármaco no citosol sem a fixação da porção coloidal do veículo (311).

Embora a grande variedade de nanopartículas (NPs) esteja a aumentar rapidamente, a maioria pode ser agrupada em duas categorias: as que contêm moléculas orgânicas como principal material de construção e as que utilizam elementos inorgânicos, como metais coloidais, no núcleo. Vários sistemas de nanopartículas têm sido estudados no contexto da AR, como nanopartículas à base de polímeros (micelas), as nanopartículas à base de lípidos (lipossomas, nanopartículas lipídicas sólidas, transportadores lipídicos nanoestruturados) e as nanopartículas metálicas (nanopartículas de ouro) (Figura 9.7).



**Figura 9.7-** Exemplos de diferentes sistemas de nanopartículas (Adaptado de (308-309)).

### 9.6.1 Nanopartículas poliméricas

As nanopartículas poliméricas são sistemas muito versáteis, por serem biocompatíveis e apresentarem características biomiméticas (311). Apresentam uma grande vantagem em comparação com outros sistemas, por serem muito estáveis e terem uma elevada capacidade de encapsulação, que pode ser influenciada pela técnica de preparação e pelas características dos componentes utilizados na formulação (312). Outra vantagem é a capacidade de entregar o agente terapêutico diretamente no local ativo ou no alvo, por possuir um revestimento polimérico, que protege o fármaco de uma eventual degradação, sem comprometer a estabilidade do mesmo (312-313).

As nanopartículas poliméricas são compostas por fármaco, polímeros e tensioativos. Os nanomateriais poliméricos são transportadores de fármacos constituídos por polímeros naturais, sintéticos ou semi-sintéticos à escala nanométrica. Dentro dos polímeros naturais hidrofílicos, os mais usados são proteínas (gelatina, albumina, colagénio) e polissacarídeos (quitosano, alginato e ácido hialurónico). Relativamente aos polímeros hidrofóbicos sintéticos, os mais utilizados são derivados de celulose, silicone e poliamidas (312-313).

O polímero ideal deve apresentar características essenciais como a biocompatibilidade, a inocuidade, a estabilidade, uma cinética de biodegradação adequada e a não acumulação nos tecidos (312). Estas propriedades devem-se manter durante um período limitado *in vivo*, sendo que a sua degradação deve ser gradual e em materiais que sejam solúveis ou sujeitos ao metabolismo e à excreção pelo organismo. Além disso, estes materiais devem apresentar um perfil de segurança razoável ou nenhuma toxicidade para o organismo após a sua degradação (312). Existem vários tipos de veículos de nanopartículas poliméricas, como as micelas, nanoesferas, nanocápsulas e dendrímeros, nesta monografia iremos debruçar-nos sobre as micelas.

#### 9.6.1.1 Micelas

As micelas poliméricas são nanoestruturas coloidais anfifílicas (contêm uma parte polar ou hidrofílica e uma parte não polar ou hidrofóbica) de tamanhos que variam entre 10 a 200nm, com um núcleo hidrofóbico interior e uma região hidrofílica exterior, organizadas numa estrutura capsular núcleo-concha, em que os fármacos lipofílicos encontram-se dispersos dentro do núcleo, e os hidrofílicos encontram-se no invólucro externo (309). Estas micelas são compostas por co-polímeros anfifílicos divididas em blocos hidrofílicos e hidrofóbicos, que se montam quando são expostas em soluções aquosas/e ou orgânicas, criando uma estrutura bifásica, normalmente esférica, caracterizada por um núcleo interno hidrofóbico e um invólucro externo hidrofílico (314).

No entanto, estas micelas adquirem estruturas diferentes de acordo com o tipo de solvente. Na presença de um solvente orgânico, em determinadas condições, os co-polímeros podem originar uma micela reversa, um núcleo interno hidrofílico e um invólucro externo hidrofóbico (314). A “automontagem” das micelas poliméricas é um processo reversível e está dependente da concentração micela crítica, esta concentração é relativa à concentração mínima de polímeros em solução, que leva à formação de micelas (314). Em soluções aquosas diluídas, as moléculas anfifílicas funcionam separadamente como tensioativos, mas à medida que a

concentração de co-polímero aumenta, começam a agregar-se devido à saturação da solução atingindo a concentração micela crítica (314).

As micelas apresentam muitas vantagens tais como, a solubilização de fármacos pouco solúveis, aumentando assim a sua biodisponibilidade, para além de apresentarem a capacidade de permanecer no organismo o tempo suficiente para que ocorra a sua acumulação no alvo desejado. Adicionalmente, o seu tamanho permite a acumulação em regiões do corpo com vasculatura com fugas, que podem ser direcionadas através da ligação de um ligando específico à superfície exterior e podem ser preparadas em grandes quantidades de forma fácil e reprodutível (315-316).

Como o invólucro exterior, é constituído por componentes que pouco reativos aos componentes do sangue e tecidos, permite que as micelas permaneçam no sangue (tecidos) durante bastante tempo sem serem reconhecidas por determinadas proteínas e/ou células fagocíticas (316). A utilização de micelas poliméricas na AR está relacionada com o aumento da solubilidade de fármacos hidrofóbicos como os glucocorticoides e os DMARDs (317).

Num estudo de Wang *et al.*, foram administradas micelas de dexametasona, a ratinhos com artrite (317). Verificaram, que após a administração intravenosa de micelas de dexametasona (0,8 mg/Kg), foi alcançado um efeito de regulação negativa na expressão de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , quando comparado com a dexametasona livre (317).

Noutro estudo, micelas de polietilenoglicol com ácido polilático modificadas com um tripeptídeo arginina-glicina-ácido aspártico, foram carregadas com o MTX e nimesulida e administradas em ratinhos com artrite (318). Foi demonstrado que as micelas poliméricas modificadas com o tripeptídeo arginina-glicina-ácido aspártico, promoveram a retenção das micelas nas articulações inflamadas e a capacidade de direção para um alvo específico, o que, por sua vez, reduziu a angiogénese com uma dose baixa de MTX e nimesulida (318). Confirmando assim, que as micelas podem ser utilizadas como veículo de administração de fármacos já aprovados para o tratamento da AR, de forma a, aumentar os seus efeitos terapêuticos, melhorando a administração do fármaco aos tecidos inflamados, minimizando os efeitos secundários (318).

## **9.6.2 Nanopartículas à base de lípidos**

### **9.6.2.1 Lipossomas**

Os lipossomas são nanopartículas esféricas coloidais, com diâmetros na ordem dos 25-1000 nm, formadas por fosfolípidos e colesterol, que se auto-organizam numa ou mais camadas de fosfolípidos com um núcleo aquoso (319). Devido a esta estrutura, é possível encapsular

moléculas lipofílicas e hidrofílicas no mesmo lipossoma, em que os fármacos hidrofílicos são encapsulados no núcleo da vesícula e os fármacos hidrofóbicos são encapsulados numa camada lipídica hidrofóbica exterior (320). O carácter anfílico dos lipossomas, torna-os transportadores ideais de moléculas com diferentes polaridades (321).

Devido às suas propriedades não tóxicas, flexíveis, biocompatíveis (pela semelhança às membranas celulares), completamente biodegradáveis e não imunogénicas, os lipossomas têm sido amplamente investigados na administração eficaz de fármacos, mas também na medicina nuclear no tratamento de doenças oncológicas (319,322). Outra propriedade importante, deve-se ao facto de os lipossomas poderem ser incorporados em diferentes formulações como, suspensões, um aerossol, loções, pós para reconstituição, e deste modo ser administrados por via ocular, pulmonar, nasal, oral, intramuscular e subcutânea (309). Adicionalmente, os lipossomas têm a capacidade de encapsular macromoléculas como, a hemoglobina, a eritropoietina, a IL-2 e o IFN- $\gamma$  (309). A farmacocinética dos lipossomas está dependente das características físico-químicas, tais como o tamanho, a carga superficial, o acondicionamento lipídico da membrana, a estabilização estérica, a dose e a via de administração (323).

No entanto, os lipossomas apresentam algumas limitações, a principal é o reconhecimento pelas células do sistema linfático e do retículo endoplasmático (319). Para contornar esta limitação, verificou-se que a adição de polietilenoglicol, um polímero hidrofílico, reduziu o reconhecimento e a absorção dos lipossomas pelo sistema do retículo endoplasmático, resultando numa circulação prolongada dos mesmos no organismo (311).

Já existem alguns estudos de aplicação de lipossomas como veículo de administração de alguns fármacos, como a dexametasona, aceclofenac, citrato de tofacitinib e MTX (307,309).

Num estudo de Jia *et al.*, foi administrado uma injeção de um lipossoma carregado com dexametasona, fosfatidilcolina de soja e solutol HS15 utilizando o método de hidratação em película fina, em ratinhos com artrite induzida (325). Os lipossomas carregados com dexametasona, apresentaram uma biodisponibilidade superior à dexametasona livre. Além disso, foi observada uma regulação negativa significativa dos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  e uma redução do inchaço das articulações dos ratinhos com artrite (325).

Em relação ao tofacitinib, devido à sua via de administração (oral), leva a que o fármaco não tenha a capacidade de direcionamento específico para o local da lesão. Apesar de apresentar uma eficácia tolerável, estão associados efeitos secundários sistémicos indesejados, fraca eficácia terapêutica em alguns doentes, e uma menor concentração do fármaco nos locais de interesse. Por isso, o uso de lipossomas como veículo, pode ajudar a resolver alguns destes problemas. Um estudo de Shen *et al.*, evidenciou que a utilização de lipossomas como veículo

do tofacitinib, está relacionada com um aumento da eficácia terapêutica e maior seletividade, pela acumulação dos lipossomas nas células inflamadas (325). Adicionalmente, também se verificou a redução da expressão de citocinas inflamatórias e da peroxidação lipídica nas células sinoviais do tecido articular de ratinhos com AR (325).

Neste sentido, a utilização de lipossomas é uma abordagem promissora, que permite o aumento da biodisponibilidade, seletividade, eficácia e segurança, eliminando algumas barreiras da administração convencional.

#### **9.6.2.2. Nanopartículas lipídicas sólidas**

As nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs) são veículos coloidais de dimensão de 50-1000 nm e são constituídos por uma mistura de lípidos sólidos (exemplo, ceras, triglicéridos, ácidos gordos), tensoativos e água (309). O núcleo é constituído por lípidos sólidos (matriz de gordura com elevado ponto de fusão e por isso, estão sólidos à temperatura ambiente), que estão dispersos e são utilizados como matriz de encapsulamento de fármacos (309).

Em comparação, e com os transportadores coloidais típicos, como as nanopartículas poliméricas e os lipossomas, estes oferecem estabilidade física, defesa contra a degradação do fármaco, libertação controlada, baixa toxicidade, uma área de superfície mais ampla e libertação de fármacos em locais específicos (309). Por serem biocompatíveis com as estruturas lipídicas, têm a capacidade de melhorar a solubilidade e a biodisponibilidade de fármacos insolúveis e podem ser fornecidos através de todas as vias existentes (309). Além disso, a produção de SLNs é relativamente fácil e pode ser efetuada sem solventes orgânicos e são facilmente produzidas (320).

Num estudo de Zewail *et al.*, SLNs com LEF revestidas por quitosano e ácido fólico, demonstraram um perfil de libertação prolongada e uma melhoria da cicatrização das articulações, como também, uma redução da hepatotoxicidade, quando comparado com a suspensão de LEF. Estes resultados podem estar relacionados com a seletividade da SLN-ácido fólico-quitosano para os recetores do ácido fólico, que estão sobre-expressos nas articulações reumáticas inflamadas (326).

No entanto, as SLNs apresentam algumas desvantagens, como pouca capacidade de veicular fármacos hidrofílicos, encapsulação de pequenas quantidades de fármaco e desencapsulação do fármaco após a transição polimérica durante o armazenamento. Isto levou, ao desenvolvimento da segunda geração de nanopartículas lipídicas, denominadas de nanopartículas lipídicas nanoestruturadas (NLCs) (327).

### 9.6.2.3 Transportadores lipídicos nanoestruturados

Os NLCs surgiram como a segunda geração de nanocarreadores lipídicos para resolver os problemas relacionados com as SLNs, como a capacidade limitada de carregamento de fármacos e a expulsão de fármacos durante o armazenamento (327). Estes transportados são compostos por uma matriz de lipídios sólidos e lipídios líquidos, uma fase aquosa e tensoativos e a sua dimensão varia de 50-500 nm (328). A proporção de lipídio sólido e lipídio líquido deve ser preferencialmente de 70:30 para um rácio de 99,9:0,1 (328). Devido a esta estrutura, os NLCs conferem uma estabilidade superior ao fármaco, nomeadamente, pela imobilização do fármaco através do lipídio sólido que vai impedir a fusão das partículas entre si, outro fator é a presença do lipídio líquido que aumenta a capacidade de carga do NLC (307).

Adicionalmente, os NLCs também podem aumentar a solubilidade do fármaco na matriz lipídica e podem apresentar perfis de libertação mais controláveis em comparação com as SLNs (329). Tal como os lipossomas, os NLCs podem transportar fármacos hidrofílicos e hidrofóbicos (309).

Os NLCs estão divididos em três tipos, de acordo com as suas estruturas e composição. O NLC imperfeito (tipo I) é obtida quando é utilizada uma mistura de lipídios com diferentes comprimentos de cadeia ou uma mistura de mono, di e triglicéridos, sendo que a distância entre as cadeias de ácidos gordos dos glicéridos, conduz a uma ordem cristalina imperfeita.<sup>(312)(330)</sup> Por conseguinte, estas imperfeições na matriz lipídica geram mais espaço para acomodar fármacos, aumentando assim a eficiência da encapsulação (312). As NLCs de tipo II, são obtidas quando os lipídios líquidos (óleos) que contêm triglicéridos de cadeia média, são misturados com os lipídios sólidos, formando uma matriz lipídica amorfa (330). A matriz amorfa reduz a expulsão do fármaco durante o armazenamento. Por último, o tipo III corresponde a NLCs múltiplas (óleo/água/lípido), que são constituídas por uma mistura de óleo e lipídios sólidos (312). Para obter esta estrutura, é necessário que a concentração de óleo seja superior aos dos lipídios sólidos. Esta característica, vai provocar uma separação de fases, que resulta na formação de nanocompartimentos oleosos no interior da matriz lipídica sólida (330). Como, a concentração dos lipídios líquidos é superior à dos lipídios sólidos, a solubilidade do fármaco aumenta, aumentando a capacidade de carga. Adicionalmente, a formação dos nanocompartimentos vai diminuir a expulsão do fármaco durante o armazenamento (312).

Tendo em conta certas características como, facilidade de reprodução, a biocompatibilidade, a ausência de toxicidade, o aumento da carga de fármaco e a estabilidade, torna-as um sistema promissor na administração de fármacos (309).

Uma das limitações da utilização de flurbiprofeno é a necessidade de uma administração múltipla devido ao seu curto tempo de semi-vida (331). Por isso, Kawadkar *et al.*, comparou a biodisponibilidade de NLCs tipo II carregadas com flurbiprofeno, com um gel comercial.<sup>(331)</sup> As NLCs foram incorporadas num gel e foram aplicadas topicamente, de forma a avaliar a viabilidade da administração transdérmica. Verificou-se que as NLCs apresentaram uma biodisponibilidade 1,7 vezes superior, um início de ação mais rápido, e exibiram um efeito anti-inflamatório mais prolongado, em comparação com o gel (331).

### 9.6.3. Nanopartículas de ouro

As nanopartículas de ouro (AuNPs) surgiram recentemente como uma abordagem intrigante e promissora para a administração direcionada de fármacos. Podem existir numa variedade de formas e tamanhos, com dimensões de 1 a 100nm (309). As AuNPs têm sido amplamente utilizadas para várias aplicações biomédicas e biotecnológicas, por apresentarem propriedades únicas tais como, uma grande biocompatibilidade e toxicidade mínima (309). Como apresentam uma grande área de superfície para a funcionalização, e uma gama de moléculas específicas através de absorção física, isto confere-lhes uma seletividade específica e precisa, ideal para tratamentos direcionados (309). Não só as AuNPs podem ser utilizadas como transportadores, mas também podem ser utilizadas como agentes terapêuticos na AR. Foi demonstrado que as AuNPs, exercem um efeito anti-angiogénico ao ligar-se ao fator de crescimento endotelial (308). A angiogénese desempenha um papel importante na patologia da AR, logo a sua inibição representa uma característica interessante no contexto da AR. Para além disso, as AuNPs são antioxidantes fortes e podem reagir com as espécies reativas de oxigénio (308). Espécies essas que estão envolvidas na patogénese da AR, por funcionarem como moléculas de sinalização e mediadores inflamatórios. Outra característica importante das AuNPs, é a inibição da formação dos osteoclastos pelo RANKL, diminuindo a erosão óssea na AR (308). Como já foi mencionado anteriormente, a osteoclastogénese é ativada pela ligação do RANKL ao seu recetor (RANK), que desencadeia a formação dos osteoclastos através de diversas vias de sinalização (332). Está evidenciado que as AuNPs interferem com diversas vias que estão envolvidas na produção de osteoclastos, tais como, a via do fator nuclear kappa B e a via da proteína quinase ativada por mitogénio, que são essenciais na formação deste tipo de células (332).

As AuNPs podem ser uma ferramenta importante na terapêutica da, pois podem otimizar a eficácia de fármacos utilizados no tratamento da AR, como o tocilizumab, inibidor da IL-6. E por isso, Lee *et. al.*, desenvolveu um novo sistema de tratamento da AR utilizando o complexo

hialuronato de sódio com AuNP/tocilizumab. A adição do complexo de hialuronato de sódio, vai reduzir a ligação inespecífica das AuNPs às proteínas plasmáticas do organismo. Os resultados demonstraram que o complexo hialuronato de sódio-AuNPs/tocilizumab apresentou melhores resultados na redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias e da inflamação das articulações, em comparação com o tocilizumab sozinho, em ratinhos com artrite induzida por colagénio. Demonstrando assim, que este complexo tem um efeito duplo e sinérgico, ao visar simultaneamente o fator de crescimento endotelial e o recetor da IL-6 (333).

## 10. Papel do farmacêutico na AR

Como referido ao longo desta dissertação, a AR é uma doença crónica debilitante, acompanhada de manifestações extra-articulares, sintomatologia persistente, incapacidade e um regime posológico complexo. É uma doença que acarreta custos diretos, como os custos da medicação e da monitorização da doença, custos indiretos, tais como, a incapacidade de realizar atividades do dia-a-dia e por último, custo intangíveis, que estão relacionados com o deterioramento da qualidade de vida do doente (37).

As limitações associadas à doença levam à perda de independência e resultam na dependência de ajuda externa, sobretudo em doentes de idade mais avançada. A dor persistente, a limitação da mobilidade articular e a perda de autonomia, vão influenciar negativamente diversos aspetos da vida destes doentes a nível, mental, físico, social e ambiental (334).

Com isto, a interpretação incorreta das crises de AR, por parte do doente pode constituir um obstáculo a opções de tratamento mais eficazes. E por isso, a intervenção farmacêutica é essencial na gestão da AR, pois os farmacêuticos possuem conhecimento suficiente, para otimizar regimes terapêuticos, identificar barreiras à adesão da medicação e desenvolver formas de as abordar, e educar os doentes em tópicos relacionados com a medicação e com a sua saúde. A gestão da AR é complexa, e por isso a não adesão à terapêutica, é uma das principais causas do aparecimento de crises, aumento da progressão da doença, e aumento da mortalidade destes doentes (334). Os doentes com AR apresentam um risco cardiovascular muito elevado, e o aparecimento de patologias como a diabetes *mellitus* e a osteoporose é muito comum. Logo, estes doentes devem ser acompanhados por uma equipa multidisciplinar, contando com a presença de um farmacêutico.

### 10.1 Papel do farmacêutico hospitalar

O aparecimento de terapias inovadoras como os medicamentos biológicos e os sintéticos direcionados, revolucionou o tratamento da AR ao possibilitar o alcance de remissão e um controlo da doença eficaz. No entanto, estas terapias apresentam custos muitos elevados para os doentes e para os sistemas de saúde. E por isso, em Portugal, estes medicamentos estão abrangidos pelo regime excecional de comparticipação, em que o Serviço Nacional de Saúde financia a 100%. O acesso a esta medicação tem de respeitar os artigos da Portaria no. 48/2016, de 22 de março, e da deliberação no.70/CD/2020, de 3 de setembro do INFARMED, I.P (355-336).

De acordo, com a legislação mencionada, a dispensa da medicação biológica e sintética direcionada, é exclusiva da farmácia hospitalar, acompanhada de um registo mínimo obrigatório por parte dos serviços farmacêuticos do Serviço Nacional de Saúde. <sup>(336)</sup> Neste sentido, os farmacêuticos hospitalares desempenham um papel crucial na dispensa desta medicação, sendo um elo de contacto entre o médico e o doente.

O farmacêutico está presente em todas as fases do circuito do medicamento, desde a receção até à dispensa. Como o farmacêutico é o especialista do medicamento, também é a fonte de informação mais adequada sobre a sua utilização, efeito terapêutico, efeitos adversos, modo de ação, modo de administração, armazenamento e dispensa (337).

No âmbito da AR, o farmacêutico hospitalar tem como função, a preparação e armazenamento da medicação biológica, e por fim a sua dispensa. Aquando da dispensa, o farmacêutico deve ensinar a técnica correta de administração, informar sobre o regime posológico, realizar a revisão sistemática da medicação, identificar potenciais contraindicações e interações, e reportar eventuais efeitos adversos.

Está evidenciado que o acompanhamento por parte do farmacêutico, resulta numa diminuição de erros relacionados com a prescrição, aumento da eficácia terapêutica, maior adesão, e redução de crises agudas (338-339).

## **10.2 Papel do farmacêutico comunitário**

O farmacêutico comunitário encontra-se numa posição privilegiada, exercendo a sua intervenção em diversas áreas como a gestão da terapêutica, administração de medicamentos, determinação de parâmetros bioquímicos, identificação de pessoas em risco, deteção precoce de diversas doenças e promoção de estilos de vida mais saudáveis. o espectro de atividades exercido pelo farmacêutico comunitário é amplo. Uma das vantagens do farmacêutico comunitário, é a proximidade para com a comunidade, garantindo o acesso do medicamento, de cuidados de saúde, e a promoção do uso racional do mesmo (340).

Como já foi referido, os medicamentos biológicos e as terapias direcionadas estão ao abrigo de uma legislação especial, e por isso, a sua dispensa só pode ser realizada na farmácia de ambulatório do hospital. Logo, o farmacêutico comunitário é responsável pela dispensa da restante medicação, como os csDMARDs, GC, AINEs, entre outros. Os csDMARDs constituem a primeira linha de tratamento e são considerados a âncora do tratamento da AR. Os csDMARDs mais utilizados em Portugal são, o MTX e a LEF, e tal como os biológicos, são comparticipados a 100% (341). A administração do MTX pode ser por via oral, ou SC, no entanto, a SC é a mais prescrita, por apresentar uma eficácia superior. Neste sentido, o

farmacêutico comunitário desempenha um papel muito importante, na garantia do uso seguro de MTX. O MTX só pode ser utilizado uma vez por semana, logo farmacêutico necessita de garantir que o doente compreende o esquema posológico e aplica a técnica de administração correta, relativamente à administração SC (340-342).

Adicionalmente, o farmacêutico deve destacar a importância da adesão à medicação, efetuar a revisão da medicação, verificação de possíveis interações com medicação não sujeita a receita médica ou suplementos, e também, deve advertir o doente, no aparecimento de possíveis efeitos adversos que possam comprometer a eficácia terapêutica e a saúde do doente (340).

Como estes doentes geralmente apresentam outras comorbilidades, o farmacêutico deve garantir que as outras patologias se encontram estão controladas e devem encaminhar estes doentes para rastreios cardiovasculares e da diabetes, devido ao risco acrescido associado à patologia de base.

## 11. Conclusão

O tratamento da AR ainda constitui um desafio na prática clínica diária. O aparecimento de novas terapias biológicas e direcionadas revolucionou a abordagem terapêutica da AR e permitiu aos doentes alcançar remissão, redução da sintomatologia e aumento da qualidade de vida. Adicionalmente, o desenvolvimento de novos critérios de diagnóstico e ferramentas que avaliam a resposta e a atividade da doença tornaram possível detetar a doença numa fase inicial, permitindo assim a instituição terapêutica imediata e a monitorização da resposta ao tratamento.

A etiologia da AR ainda permanece desconhecida, o que dificulta a abordagem clínica, como também a criação de medidas de prevenção. Apesar de existirem fatores que estão relacionados com o desenvolvimento da AR, como o tabagismo e a genética, a falta de compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na patogénese da AR, constitui uma limitação ao arsenal terapêutico que existe, e à descoberta de uma cura. Por ser uma doença de carácter crónico, os doentes são obrigados a realizar uma terapêutica para o resto da vida, de forma a diminuir a progressão da doença, o aparecimento de manifestações extra-articulares, mortalidade e morbidade. No entanto, as terapêuticas existentes nem são sempre eficazes e muitos doentes não alcançam uma atividade da doença baixa, nem remissão. Para além disso, esta medicação tem interações graves com a medicação adjuvante da AR e está associada com o aparecimento de efeitos secundários graves, que muitas vezes levam à sua descontinuação. Por isso, é necessário encontrar terapêuticas mais eficazes acessíveis e com um perfil de segurança mais favorável, principalmente, para os doentes que são resistentes à terapêutica existente.

Existem novas abordagens terapêuticas que têm exibido resultados promissores, relativamente à sua eficácia e ao seu perfil de segurança. A descoberta da epigenética tem revolucionado o tratamento e abordagem de várias patologias, fornecendo respostas a algumas questões pertinentes. Outra abordagem que tem exibido resultados satisfatórios é a utilização de sistemas de nanopartículas como veículo de administração de fármacos já utilizados na AR, de forma a aumentar a sua eficácia e segurança. De uma forma geral, as abordagens terapêuticas em estudo mencionadas nesta monografia, demonstraram resultados favoráveis à sua utilização no futuro.

Adicionalmente, o farmacêutico desempenha um papel muito importante no acompanhamento destes doentes, em que a sua abordagem deve ser direcionada para o doente e não para o medicamento. Com isto, o farmacêutico deve focar-se na promoção de estilos de vida mais saudáveis, na monitorização de parâmetros bioquímicos, e na educação para a saúde,

fornecendo ferramentas importantes, de forma que o doente tenha capacidade para reconhecer eventuais efeitos adversos e comportamentos de risco, fazer um uso racional do medicamento, uma correta adesão e administração da medicação.

## 12. Referências Bibliográficas

1. Kaur S, White S, Bartold M. Periodontal disease as a risk factor for rheumatoid arthritis: A systematic review. *JBI Libr Syst Rev.* **2012**;10(42 Suppl):1-12.
2. Gravallesse EM, Firestein GS. Rheumatoid arthritis—common origins, divergent mechanisms. *N Engl J Med.* **2023**;388(6):529–42.
3. England BR, Mikuls TR. Epidemiology of, risk factors for, and possible causes of rheumatoid arthritis [Internet]. *Uptodate*; **2024** [citado 2024 Maio 17]. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-of-risk-factors-for-and-possible-causes-of-rheumatoid-arthritis>
4. Chancay MG, Guendeschadze SN, Blanco I. Types of pain and their psychosocial impact in women with rheumatoid arthritis. *Womens Midlife Health* **2019**;5(3).
5. Moreland L. Unmet needs in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* **2005**;7(Suppl 3).
6. Gibofsky A. Overview of epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis. *Am J Manag Care.* **2012**; 18(13 Suppl)-S295-302.
7. Almutairi K, Nossent J, Preen D, Keen H, Inderjeeth C. The global prevalence of rheumatoid arthritis: a meta-analysis based on a systematic review. *Rheumatol Int.* **2021**;41(5):863–77.
8. Alamanos Y, Drosos AA. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev.* **2005**;4(3):130–6.
9. Jiang Q, Yang G, Liu Q, Wang S, Cui D. Function and Role of Regulatory T Cells in Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol.* **2021**;12:626193.
10. Radu, A. F., & Bungau, S. G. Management of Rheumatoid Arthritis: An Overview. *Cells.* **2021**;10(11):2857.
11. Bullock J, Rizvi SAA, Saleh AM, Ahmed SS, Do DP, Ansari RA, Ahmed J. Rheumatoid Arthritis: A Brief Overview of the Treatment. *Med Princ Pract.* **2018**;27(6):501-7.
12. Smolen JS, Aletaha D, Koeller M, Weisman MH, Emery P. New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet.* **2007**;370(9602):1861–74.
13. Abbasi M, Mousavi MJ, Jamalzehi S, Alimohammadi R, Bezvan MH, Mohammadi H, *et al.* Strategies toward rheumatoid arthritis therapy; the old and the new. *J Cell Physiol.* **2019**;234(7):10018–31.
14. Taylor PC, Fautrel B, Piette Y, Romero-Yuste S, Broen J, Welcker M, *et al.* Treat-to-target in rheumatoid arthritis: a real-world study of the application and impact of treat-to-target within the wider context of patient management, patient centricity and advanced therapy use in Europe. *RMD Open.* **2022**;8(2).
15. Hyndman IJ. Rheumatoid arthritis: past, present and future approaches to treating the disease. *Int J Rheum Dis.* **2017**;20(4):417–9.
16. Landré-Beauvais AJ. The first description of rheumatoid arthritis. Unabridged text of the doctoral dissertation presented in 1800. *Joint Bone Spine.* **2001**; 68:130–42.
17. Entezami P, Fox DA, Clapham PJ, Chung KC. Historical perspective on the etiology of rheumatoid arthritis. *Hand Clin.* **2011**;27(1):1–10.

18. Storey GD. Alfred Baring Garrod (1819–1907). *Rheumatology (Oxford)*. **2001**;40(10):1189–90.
19. American College of Rheumatology. About American College of Rheumatology (ACR) [Internet]. Atlanta (GA): American College of Rheumatology; [citado 2023 Jul 25]. Disponível em: <https://rheumatology.org/about>
20. European Alliance of Associations for Rheumatology. Who we are [Internet]. [citado 2023 Aug 1]. Disponível em: <https://www.eular.org/whoweare>
21. Liga Portuguesa Contra as Doenças Reumáticas. Quem Somos [Internet]. Lisboa: Liga Portuguesa Contra as Doenças Reumáticas; [citado 2023 Aug 1]. Disponível em: <https://www.lpcdr.org.pt/lpcdr/quem-somos>
22. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TWJ. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. **2010**;376(9746):1094–108.
23. Arima H, Koirala S, Nema K, Nakano M, Ito H, Poudel KM, *et al*. High prevalence of rheumatoid arthritis and its risk factors among Tibetan highlanders living in Tsarang, Mustang district of Nepal. *J Physiol Anthropol*. **2022**;41(1):12.
24. Gabriel SE, Michaud K. Epidemiological studies in incidence, prevalence, mortality, and comorbidity of the rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther* **2009**;11: 229
25. Vos T, Lim SS, Abbafati C, Abbas KM, Abbasi M, Abbasifard M, *et al*. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. **2020**;396(10258):1204–22.
26. Safiri S, Kolahi AA, Hoy D, Smith E, Bettampadi D, Mansournia MA, *et al*. Global, regional and national burden of rheumatoid arthritis 1990-2017: a systematic analysis of the Global Burden of Disease study 2017. *Ann Rheum Dis*. **2019**;78(11):1463-71.
27. Finckh A, Gilbert B, Hodgkinson B, Bae S-C, Thomas R, Deane K, *et al*. Global epidemiology of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. **2022**;18(10):591-602.
28. Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Reuma.pt [Internet]. [citado 2023 Oct 18]. Disponível em: <https://reuma.pt/quem-somos/>
29. Associação Nacional de Doentes com Artrite Reumatóide. Artrite Reumatóide [Internet]. **2022** [citado 2023 Oct 18]. Disponível em: <https://andar-reuma.org/artrite-reumatoide/>
30. Costa L, Gal D, Barros H. Prevalência auto-declarada de doenças reumáticas numa população urbana. *Acta Reumatol Port* **2004**; 29:169-74.
31. de Abreu TT, Silva NJ, Portelinha D, Santos E, Brito H, Barros MJ, *et al*. Internistas e Doenças Auto-imunes: Registo Nacional. *Med Interna* [Internet]. **2006** [citado 12 de Outubro de 2023]. Disponível em: <https://revista.spmi.pt/index.php/rpmi/article/view/1582>
32. Branco JC, Rodrigues AM, Gouveia N, Eusébio M, Ramiro S, Machado PM, *et al*. Prevalence of rheumatic and musculoskeletal diseases and their impact on health-related quality of life, physical function and mental health in Portugal: results from EpiReumaPt– a national health survey. *RMD Open*. **2016**;2(1).
33. Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Relatório de execução de 2021. Registo Nacional de Doentes Reumáticos; **2021**. [Citado em 2023 out 12]. Disponível em [https://reuma.pt/pt\\_PT/docs/Reumapt\\_resumo\\_relatorio\\_execucao\\_202112.pdf](https://reuma.pt/pt_PT/docs/Reumapt_resumo_relatorio_execucao_202112.pdf). Dez (31)

34. Sociedade Portuguesa de Reumatologia. Relatório de execução de 2022. Registo Nacional de Doentes Reumáticos; **2022**.
35. INFARMED. Meio hospitalar-Monitorização do consumo de medicamentos, Janeiro-Dezembro 2022. [Acedido em 2023 out 12]. Disponível em <https://www.infarmed.pt/documents/15786/6747749/dezembro/4d35b6e0-8a53-b1a5-7c44-d4fa3c1e979e>.
36. Chauhan K, Jandu JS, Brent LH, Al-Dhahir MA. Rheumatoid Arthritis. *in: StatPearls [Internet]*, Treasure Islands (FL) StatPearls Publishing; **2023**. [Citado 2023 out 12]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441999/>
37. Smolen JS, Aletaha D, Barton A, Burmester GR, Emery P, Firestein GS, *et al*. Rheumatoid arthritis. *Nat Rev Dis Primers*. **2018**;4:18001.
38. Scherer HU, Häupl T, Burmester GR. The etiology of rheumatoid arthritis. *J Autoimmun*. **2020**;110:102400.
39. Deane KD, Demoruelle MK, Kelmenson LB, Kuhn KA, Norris JM, Holers VM. Genetic and environmental risk factors for rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. **2017**;31(1):3-18.
40. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. **2001**;358(9285):903–11.
41. Tanaka Y. Rheumatoid arthritis. *Inflamm Regen*. **2020**;40(1):40.
42. Romão VC, Fonseca JE. Etiology and Risk Factors for Rheumatoid Arthritis: A State-of-the-Art Review. *Front Med (Lausanne)*. **2021**;8:689698.
43. Holoshitz J. The rheumatoid arthritis HLA–DRB1 shared epitope. *Curr Opin Rheumatol*. **2010**;22(3):293–8.
44. de Almeida DE, Ling S, Holoshitz J. New Insights into the Functional Role of the Rheumatoid Arthritis Shared Epitope *FEBS Lett*. **2011**;585(23):3619–26.
45. Deane KD, Norris JM, Holers VM. Preclinical rheumatoid arthritis: identification, evaluation, and future directions for investigation. *Rheum Dis Clin North Am*. **2010**;36(2):213–41.
46. Arend WP, Firestein GS. Pre-rheumatoid arthritis: predisposition and transition to clinical synovitis. *Nat Rev Rheumatol*. **2012**;8(10):573–86.
47. Smolen JS, Steiner G. Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Drug Discov*. **2003**;2(6):473–88.
48. Haro I, Sanmartí R, Gómara MJ. Implications of Post-Translational Modifications in Autoimmunity with Emphasis on Citrullination, Homocitrullination and Acetylation for the Pathogenesis, Diagnosis and Prognosis of Rheumatoid Arthritis. *Int J Mol Sci*. **2022**;23(24):15803.
49. Trouw LA, Rispens T, Toes REM. Beyond citrullination: other post-translational protein modifications in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. **2017**;13(6):331–9.
50. de Brito Rocha S, Baldo DC, Andrade LEC. Clinical and pathophysiologic relevance of autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Adv Rheumatol*. **2019**;59(1):2.
51. Wu C-Y, Yang H-Y, Lai J-H. Anti-Citrullinated Protein Antibodies in Patients with Rheumatoid Arthritis: Biological Effects and Mechanisms of Immunopathogenesis. *Int J Mol Sci*. **2020**;21(11):4015.

52. Papadogianni P, Lambrou GI. Rheumatoid Arthritis and Pannus. *J Res Pract Musculoskelet Syst.* **2023**;7(2):44–9.
53. Smolen JS, Aletaha D, Redlich K. The pathogenesis of rheumatoid arthritis: new insights from old clinical data? *Nat Rev Rheumatol.* **2012**;8(4):235–43.
54. Takayanagi H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat Rev Immunol.* **2007**;7(4):292–304.
55. Schett G. Osteoimmunology in rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther.* **2009**;11(1):210.
56. Okamoto K, Nakashima T, Shinohara M, Negishi-Koga T, Komatsu N, Terashima A, *et al.* Osteoimmunology: The Conceptual Framework Unifying the Immune and Skeletal Systems. *Physiol Rev.* **2017**;97(4):1295–349.
57. Walsh MC, Takegahara N, Kim H, Choi Y. Updating osteoimmunology: regulation of bone cells by innate and adaptive immunity. *Nat Rev Rheumatol.* **2018**;14(3):146–56.
58. Takayanagi H. The unexpected link between osteoclasts and the immune system. In: Choi Y, editor. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1st ed. Vol. 658. New York: Springer; **2009**.61–8.
59. McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol.* **2007**;7(6):429–42.
60. Amarasekara DS, Yun H, Kim S, Lee N, Kim H, Rho J. Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks. *Immune Netw.* **2018**;18(1).
61. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys.* **2008**;473(2):139–46.
62. Silva I, Branco JC. RANK/RANKL/OPG: LITERATURE REVIEW. *Acta Reumatol Port.* **2011**;36(3):209–18.
63. Boyce BF, Xing L. The RANKL/RANK/OPG pathway. *Curr Osteoporos Rep.* **2007**;5(3):98–104.
64. Ruiz-Esquide V, Sanmartí R. Tobacco and Other Environmental Risk Factors in Rheumatoid Arthritis. *Reumatol Clín (Engl Ed).* **2012**;8(6):342–50.
65. Dedmon LE. The genetics of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* **2020**;59(10):2661–70.
66. Frisell T, Saevarsdottir S, Askling J. Family history of rheumatoid arthritis: an old concept with new developments. *Nat Rev Rheumatol.* **2016**;12(6):335–43.
67. Padyukov L. Genetics of rheumatoid arthritis. *Semin Immunopathol.* **2022**;44(1):47–62.
68. van Drongelen V, Holoshitz J. Human Leukocyte Antigen-Disease Associations in Rheumatoid Arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* **2017**;43(3):363-76.
69. van der Woude D, Houwing-Duistermaat JJ, Toes REM, Huizinga TWJ, Thomson W, Worthington J, *et al.* Quantitative heritability of anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* **2009**;60(4):916–23.
70. Okada Y, Eyre S, Suzuki A, Kochi Y, Yamamoto K. Genetics of rheumatoid arthritis: 2018 status. *Ann Rheum Dis.* **2019**;78(4):446–53.

71. Suzuki A, Yamada R, Chang X, Tokuhiko S, Sawada T, Suzuki M, *et al.* Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* **2003**;34(4):395–402.
72. Huang SC, Hua DJ, Sun QQ, Zhang LN, Cen H, Zhou L. Associations of *TRAF1/C5* rs10818488 and rs3761847 polymorphisms with genetic susceptibility to rheumatoid arthritis: a case-control study and updated meta-analysis. *Cent Eur J Immunol.* **2019**;44(2):159-73.
73. Wang Q, Martínez-Bonet M, Kim T, Sparks JA, Ishigaki K, Chen X, *et al.* Identification of a regulatory pathway governing TRAF1 via an arthritis-associated non-coding variant. *Cell Genom.* **2023**;3(11):100420.
74. Zhou C, Gao S, Yuan X, Shu Z, Li S, Sun X, *et al.* Association between CTLA-4 gene polymorphism and risk of rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Aging (Albany NY).* **2021**;13(15):19397–414.
75. Remmers EF, Plenge RM, Lee AT, Graham RR, Hom G, Behrens TW, *et al.* STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* **2007**;357(10):977–86.
76. Korman BD, Kastner DL, Gregersen PK, Remmers EF. STAT4: Genetics, Mechanisms, and Implications for Autoimmunity. *Curr Allergy Asthma Rep.* **2008**;8(5):398–403.
77. Karami J, Aslani S, Tahmasebi MN, Mousavi MJ, Sharafat Vaziri A, Jamshidi A, *et al.* Epigenetics in rheumatoid arthritis; fibroblast-like synoviocytes as an emerging paradigm in the pathogenesis of the disease. *Immunol Cell Biol.* **2020**;98(3):171–86.
78. Nemtsova MV, Zaletaev DV, Bure IV, Mikhaylenko DS, Kuznetsova EB, Alekseeva EA, *et al.* Epigenetic Changes in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Front Genet.* **2019**;10:570.
79. Wang J, Yan S, Yang J, Lu H, Xu D, Wang Z. Non-coding RNAs in Rheumatoid Arthritis: From Bench to Bedside. *Front Immunol.* **2020**;10:3129.
80. Alpizar-Rodríguez D, Pluchino N, Canny G, Gabay C, Finckh A. The role of female hormonal factors in the development of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* **2017**;56(8):1254–63.
81. Ford JA, Liu X, Chu SH, Lu B, Cho MH, Silverman EK, *et al.* Asthma, Chronic Obstructive Pulmonary Disease, and Subsequent Risk for Incident Rheumatoid Arthritis Among Women: A Prospective Cohort Study. *Arthritis Rheumatol.* **2020**;72(5):704–13.
82. Friedlander HM, Ford JA, Zaccardelli A, Terrio AV, Cho MH, Sparks JA. Obstructive lung diseases and risk of rheumatoid arthritis. *Expert Rev Clin Immunol.* **2020**;16(1):37–50.
83. Rolfes MC, Juhn YJ, Wi C-I, Sheen YH. Asthma and the Risk of Rheumatoid Arthritis: An Insight into the Heterogeneity and Phenotypes of Asthma. *Tuberc Respir Dis (Seoul).* **2017**;80(2):113-35.
84. Vallerand IA, Lewinson RT, Frolkis AD, *et al.* Depression as a risk factor for the development of rheumatoid arthritis: a population-based cohort study. *RMD Open.* **2018**;4.
85. Bengtsson C, Padyukov L, Källberg H, Saevarsdottir S. Thyroxin substitution and the risk of developing rheumatoid arthritis; results from the Swedish population based EIRA study. *Ann Rheum Dis.* **2014**;73(6):1096–100.

86. Kronzer VL, Westerlind H, Alfredsson L, Crowson CS, Klareskog L, Holmqvist M, *et al.* Allergic conditions and risk of rheumatoid arthritis: a Swedish case–control study. *RMD Open*. **2022**;8(1).
87. Lu Z, Zeng N, Cheng Y, Chen Y, Li Y, Lu Q, *et al.* Atopic dermatitis and risk of autoimmune diseases: a systematic review and meta-analysis. *Allergy Asthma Clin Immunol*. **2021**;17(1):96.
88. Schmitt J, Schwarz K, Baurecht H, Hotze M, Fölster-Holst R, Rodríguez E, *et al.* Atopic dermatitis is associated with an increased risk for rheumatoid arthritis and inflammatory bowel disease, and a decreased risk for type 1 diabetes. *J Allergy Clin Immunol*. **2016**;137(1):130–6.
89. Dar L, Tiosano S, Watad A, Bragazzi NL, Zisman D, Comaneshter D, *et al.* Are obesity and rheumatoid arthritis interrelated? *Int J Clin Pract*. **2018**;72(1).
90. Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Koutedakis Y, Kitas GD. Obesity in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. **2011**;50(3):450–62.
91. Liu Y, Hazlewood GS, Kaplan GG, Eksteen B, Barnabe C. Impact of Obesity on Remission and Disease Activity in Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. **2017**;69(2):157–65.
92. George MD, Giles JT, Katz PP, England BR, Mikuls TR, Michaud K, *et al.* Impact of Obesity and Adiposity on Inflammatory Markers in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. **2017**;69(12):1789–98.
93. Crowson CS, Matteson EL, Davis JM III, Gabriel SE. Contribution of obesity to the rise in incidence of rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. **2013**;65(1):71–7.
94. Jeffery LE, Raza K, Hewison M. Vitamin D in rheumatoid arthritis—towards clinical application. *Nat Rev Rheumatol*. **2016**;12(4):201–10.
95. Desai N, Federico L, Baker JF. Lifestyle, Hormonal, and Metabolic Environmental Risks for Rheumatoid Arthritis *Rheum Dis Clin North Am*. **2022**;48(4):799–811.
96. Charoenngam N. Vitamin D and Rheumatic Diseases: A Review of Clinical Evidence. *Int J Mol Sci*. **2021**;22(19):10659.
97. Bae S-C, Lee YH. Vitamin D level and risk of systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: a Mendelian randomization. *Clin Rheumatol*. **2018**;37(9):2415–21.
98. Ruiz-Esquide Raimon V. Tobacco and Other Environmental Risk Factors in Rheumatoid Arthritis. *Reumatol Clin*. **2012**;8(6):342–50.
99. Zaccardelli A, Friedlander HM, Ford JA, Sparks JA. Potential of Lifestyle Changes for Reducing the Risk of Developing Rheumatoid Arthritis: Is an Ounce of Prevention Worth a Pound of Cure?. *Clin Ther*. **2019**;41(7):1323–45.
100. Salliot C, Nguyen Y, Boutron-Ruault M-C, Seror R. Environment and Lifestyle: Their Influence on the Risk of RA. *J Clin Med*. **2020**;9(10):3109.
101. Karlson EW, Deane K. Environmental and gene-environment interactions and risk of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. **2012**;38(2):405–26.
102. Källberg H, Ding B, Padyukov L, Bengtsson C, Rönnelid J, Klareskog L, *et al.* Smoking is a major preventable risk factor for rheumatoid arthritis: estimations of risks after various exposures to cigarette smoke. *Ann Rheum Dis*. **2011**;70(3):508–11.

103. Luedders BA, Mikuls TR, Thiele GM, Poole JA, England BR. Inhalant and Additional Mucosal-Related Environmental Risks for Rheumatoid Arthritis *Rheum Dis Clin North Am.* **2022**;48(4):781–98.
104. Arnson Y, Shoenfeld Y, Amital H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmun.* **2010**;34(3):258–65.
105. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Källberg H, Bengtsson C, Grunewald J, Rönnelid J, Erlandsson Harris H, Ulfgren ÅK, Rantapää-Dahlqvist S, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: Smoking may trigger HLA–DR (shared epitope)–restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum.* **2006**;54(1):38–46.
106. Nava-Quiroz KJ, Rojas-Serrano J, Pérez-Rubio G, Buendia-Roldan I, Mejía M, Fernández-López JC, et al. Molecular Factors in PAD2 (PADI2) and PAD4 (PADI4) Are Associated with Interstitial Lung Disease Susceptibility in Rheumatoid Arthritis Patients. *Cells.* **2023**;12(18):2235.
107. Cappelli LC, Konig MF, Gelber AC, Bingham CO III, Darrah E. Smoking is not linked to the development of anti-peptidylarginine deiminase 4 autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* **2018**;20(1):59.
108. Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren A-K, Nicholas AP, Zendman AJW, Eklund A, et al. Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. *Ann Rheum Dis.* **2008**;67(10):1488–92.
109. Ospelt C, Bang H, Feist E, Camici G, Keller S, Detert J, et al. Carbamylation of vimentin is inducible by smoking and represents an independent autoantigen in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* **2017**;76(7):1176–83.
110. Stamp LK, O’Donnell JL, Chapman PT, Zhang M, Frampton C, James J, et al. Determinants of red blood cell methotrexate polyglutamate concentrations in rheumatoid arthritis patients receiving long-term methotrexate treatment. *Arthritis Rheum.* **2009**;60(8):2248–56.
111. Rodríguez-Lozano B, González-Febles J, Garnier-Rodríguez JL, Dadlani S, Bustabad-Reyes S, Sanz M, et al. Association between severity of periodontitis and clinical activity in rheumatoid arthritis patients: a case–control study. *Arthritis Res Ther.* **2019**;21(1):27.
112. Potempa J, Mydel P, Koziel J. The case for periodontitis in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* **2017**;13(10):606–20.
113. de Molon RS, Rossa C Jr, Thurlings RM, Cirelli JA, Koenders MI. Linkage of Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: Current Evidence and Potential Biological Interactions. *Int J Mol Sci.* **2019**;20(18):4541.
114. Konig MF, Abusleme L, Reinholdt J, Palmer RJ, Teles RP, Sampson K, et al. Aggregatibacter actinomycetemcomitans-induced hypercitrullination links periodontal infection to autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med.* **2016**;8(369):369ra176.
115. Bolstad AI, Poulsen AH, Yucel-Lindberg T, Klinge B, Holmstrup P. The interrelationship of periodontitis and rheumatoid arthritis. *Nor Tannlegeforen Tid.* **2020**; 130(1):26–32.
116. Zhao T, Wei Y, Zhu Y, Xie Z, Hai Q, Li Z, et al. Gut microbiota and rheumatoid arthritis: From pathogenesis to novel therapeutic opportunities. *Front Immunol.* **2022**;13:1007165.

117. He J, Chu Y, Li J, Meng Q, Liu Y, Jin J, *et al.* Intestinal butyrate-metabolizing species contribute to autoantibody production and bone erosion in rheumatoid arthritis. *Sci Adv.* **2022**;8(6).
118. Pianta A, Arvikar S, Strle K, Drouin EE, Wang Q, Costello CE, *et al.* Evidence of the Immune Relevance of *Prevotella copri*, a Gut Microbe, in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol.* **2017**;69(5):964–75.
119. Alpizar-Rodriguez D, Lesker TR, Gronow A, Gilbert B, Raemy E, Lamacchia C, *et al.* *Prevotella copri* in individuals at risk for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* **2019**;78(5):590–3.
120. Liu X, Zou Q, Zeng B, Fang Y, Wei H. Analysis of fecal *Lactobacillus* community structure in patients with early rheumatoid arthritis. *Curr Microbiol.* **2013**;67(2):170–6.
121. Liu X, Zhang J, Zou Q, Zhong B, Wang H, Mou F, *et al.* *Lactobacillus salivarius* isolated from patients with rheumatoid arthritis suppresses collagen-induced arthritis and increases Treg frequency in mice. *J Interferon Cytokine Res.* **2016**;36(12):706–12.
122. Lee S, Hayashi H, Mastuzaki H, Kumagai-Takei N, Otsuki T. Silicosis and autoimmunity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* **2017**;17(2):78–84.
123. Blanc PD, Trupin L, Yelin EH, Schmajuk G. Assessment of Risk of Rheumatoid Arthritis Among Underground Hard Rock and Other Mining Industry Workers in Colorado, New Mexico, and Utah *JAMA Netw Open.* **2022**;5(10).
124. Min Y-S, Kim M-G, Ahn Y-S. Rheumatoid Arthritis in Silica-Exposed Workers. *Int J Environ Res Public Health.* **2021**;18(23):12776.
125. Guo H, Callaway JB, Ting JP-Y. Inflammasomes: Mechanism of Action, Role in Disease, and Therapeutics. *Nat Med.* **2015**;21(7):677–87.
126. Wrangel O, Graff P, Bryngelsson I-L, Fornander L, Wiebert P, Vihlborg P. Silica Dust Exposure Increases Risk for Rheumatoid Arthritis: A Swedish National Registry Case-Control Study. *J Occup Environ Med.* **2021**;63(11):951–5.
127. Boudigaard SH, Schlünssen V, Vestergaard JM, Søndergaard K, Torén K, Peters S, *et al.* Occupational exposure to respirable crystalline silica and risk of autoimmune rheumatic diseases: a nationwide cohort study. *Int J Epidemiol.* **2021**;50(4):1213–26.
128. Mehri F, Jenabi E, Bashirian S, Shahna FG, Khazaei S. The association Between Occupational Exposure to silica and Risk of Developing Rheumatoid Arthritis: A Meta-Analysis. *Saf Health Work.* **2020**;11(2):136–42.
129. Azizov V, Dietel K, Steffen F, Dürholz K, Meidenbauer J, Lucas S, *et al.* Ethanol consumption inhibits T<sub>FH</sub> cell responses and the development of autoimmune arthritis. *Nat Commun.* **2020**;11(1):1998.
130. Azizov V, Zaiss MM. Alcohol Consumption in Rheumatoid Arthritis: A Path through the Immune System. *Nutrients.* **2021**;13(4):1324.
131. Jin Z, Xiang C, Cai Q, Wei X, He J. Alcohol consumption as a preventive factor for developing rheumatoid arthritis: a dose-response meta-analysis of prospective studies. *Ann Rheum Dis.* **2014**;73(11):1962–7.
132. Maxwell JR, Gowers IR, Moore DJ, Wilson AG. Alcohol consumption is inversely associated with risk and severity of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* **2010**;49(11):2140–6.

133. Scott IC, Tan R, Stahl D, Steer S, Lewis CM, Cope AP. The protective effect of alcohol on developing rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)*. **2013**;52(5):856–67.
134. Källberg H, Jacobsen S, Bengtsson C, Pedersen M, Padyukov L, Garred P, *et al*. Alcohol consumption is associated with decreased risk of rheumatoid arthritis: results from two Scandinavian case–control studies. *Ann Rheum Dis*. **2009**;68(2):222–7.
135. Vinuesa CG, Linterman MA, Yu D, MacLennan ICM. Follicular Helper T Cells. *Annu Rev Immunol*. **2016**;34(1):335–68.
136. Jiang X, Sandberg MEC, Saevarsdottir S, Klareskog L, Alfredsson L, Bengtsson C. Higher education is associated with a better rheumatoid arthritis outcome concerning for pain and function but not disease activity: results from the EIRA cohort and Swedish rheumatology register. *Arthritis Res Ther*. **2015**;17(1):317.
137. Zhao SS, Rogers K, Kearsley-Fleet L, Watson K, Bosworth A, Galloway J, *et al*. Socioeconomic deprivation is associated with reduced response and lower treatment persistence with TNF inhibitors in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. **2024**;63(3):648–56.
138. Shin A, Shin S, Kim JH, Ha Y-J, Lee YJ, Song YW, *et al*. Association between socioeconomic status and comorbidities among patients with rheumatoid arthritis: results of a nationwide cross-sectional survey. *Rheumatology (Oxford)*. **2019**;58(9):1617–22.
139. Bengtsson C, Nordmark B, Klareskog L, Lundberg I, Alfredsson L. Socioeconomic status and the risk of developing rheumatoid arthritis: results from the Swedish EIRA study. *Ann Rheum Dis*. **2005**;64(11):1588-94.
140. Gioia C, Lucchino B, Tarsitano MG, Iannuccelli C, Di Franco M. Dietary Habits and Nutrition in Rheumatoid Arthritis: Can Diet Influence Disease Development and Clinical Manifestations?. *Nutrients*. **2020**;12(5):1456.
141. Philippou E, Nikiphorou E. Are we really what we eat? Nutrition and its role in the onset of rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*. **2018**;17(11):1074–71
142. Clemente JC, Manasson J, Scher JU. The role of the gut microbiome in systemic inflammatory disease. *BMJ*. **2018**;360.
143. Sköldstam L, Hagfors L, Johansson G. An experimental study of a Mediterranean diet intervention for patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. **2003**;62(3):208–14.
144. Forsyth C, Kouvari M, D’Cunha NM, Georgousopoulou EN, Panagiotakos DB, Mellor DD, *et al*. The effects of the Mediterranean diet on rheumatoid arthritis prevention and treatment: a systematic review of human prospective studies. *Rheumatol Int*. **2018**;38(5):737–47.
145. Skoczyńska M, Świerkot J. The role of diet in rheumatoid arthritis. *Reumatologia*. **2018**;56(4):259–67.
146. Kim S-G, Kang JW, Jeong SM, Song GG, Choi SJ, Jung JH. Is Rheumatoid Arthritis Related to Coffee Consumption in Korea? A Nationwide Cross-Sectional Observational Study. *Int J Environ Res Public Health*. **2021**;18(15):7880.
147. Sharif K, Watad A, Bragazzi NL, Adawi M, Amital H, Shoenfeld Y. Coffee and autoimmunity: More than a mere hot beverage! *Autoimmun Rev*. **2017**;16(7):712–21.

148. Westerlind H, Dukuzimana J, Lu X, Alfredsson L, Klareskog L, Di Giuseppe D. Investigation of the association between coffee and risk of RA—results from the Swedish EIRA study. *Arthritis Res Ther.* **2022**;24(1):178.
149. Asoudeh F, Dashti F, Jayedi A, Hemmati A, Fadel A, Mohammadi H. Caffeine, Coffee, Tea and Risk of Rheumatoid Arthritis: Systematic Review and Dose-Response Meta-analysis of Prospective Cohort Studies. *Front Nutr.* **2022**;9:822557.
150. van der Helm-van Mil AHM, Huizinga TWJ. The 2010 ACR/EULAR criteria for rheumatoid arthritis: do they affect the classification or diagnosis of rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis.* **2012**;71(10):1596–8.
151. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, Mcshane DJ, Fries JF, Cooper NS, *et al.* The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* **1988**;31(3):315–24.
152. Cornec D, Varache S, Morvan J, Devauchelle-Pensec V, Berthelot J-M, Le Henaff-Bourhis C, *et al.* Comparison of ACR 1987 and ACR/EULAR 2010 criteria for predicting a 10-year diagnosis of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine.* **2012**;79(6):581–5.
153. Berglin E, Dahlqvist SR. Comparison of the 1987 ACR and 2010 ACR/EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis in clinical practice: a prospective cohort study. *Scand J Rheumatol.* **2013**;42(5):362–8
154. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, *et al.* 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* **2010**;69(9):1580–8.
155. Kay J, Upchurch KS. ACR/EULAR 2010 rheumatoid arthritis classification criteria. *Rheumatology (Oxford).* **2012**;51(Suppl 6):vi5–9.
156. Šenolt L, Grassi W, Szodoray P. Laboratory biomarkers or imaging in the diagnostics of rheumatoid arthritis? *BMC Med.* **2014**;12(1):49.
157. Wasserman AM. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis. *Am Fam Physician.* **2011**;84(11):1245–52.
158. Taylor PC. Update on the diagnosis and management of early rheumatoid arthritis. *Clin Med.* **2020**;20(6):561–4.
159. Jutley GS, Latif ZP, Raza K. Symptoms in individuals at risk of rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* **2017**;31(1):59–70.
160. Maru D, Mulla E. Rheumatoid arthritis. *InnovAiT.* **2020**;13(1):13–20.
161. Briggs AM, Fary RE, Slater H, Ranelli S, Chan M. Physiotherapy co-management of rheumatoid arthritis: Identification of red flags, significance to clinical practice and management pathways. *Man Ther.* **2013**;18(6):583–7.
162. Conforti A, Di Cola I, Pavlych V, Ruscitti P, Berardicurti O, Ursini F, *et al.* Beyond the joints, the extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev.* **2021**;20(2):102735.
163. Prete M, Racanelli V, Digiglio L, Vacca A, Dammacco F, Perosa F. Extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis: An update. *Autoimmun Rev.* **2011**;11(2):123–31.
164. Figus FA, Piga M, Azzolin I, McConnell R, Iagnocco A. Rheumatoid arthritis: Extra-articular manifestations and comorbidities. *Autoimmun Rev.* **2021**;20(4):102776.

165. Gulati M, Farah Z, Mouyis M. Clinical features of rheumatoid arthritis. *Medicine*. **2018**;46(4):211–5.
166. Rajeshwari B, Kumar S. Rheumatoid Neuropathy: A Brief Overview. *Cureus*. **2023**;15(1).
167. Cojocaru M, Cojocaru IM, Silosi I, Vrabie CD, Tanasescu R. Extra-Articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis. *Maedica*. **2010**;5(4):286–91.
168. Klein A, Polliack A, Gafter-Gvili A. Rheumatoid arthritis and lymphoma: Incidence, pathogenesis, biology, and outcome. *Hematol Oncol*. **2018**;36(5):733–9.
169. Giles JT. Extra-articular Manifestations and Comorbidity in Rheumatoid Arthritis: Potential Impact of Pre-Rheumatoid Arthritis Prevention *Clin Ther*. **2019**;41(7):1246–55.
170. Mahmoud W, El-Naby MMH, Awad AA. Carpal tunnel syndrome in rheumatoid arthritis patients: the role of combined ultrasonographic and electrophysiological assessment. *Egypt Rheumatol Rehabil*. **2022**;49(1):62.
171. Xie W, Yang X, Ji L, Zhang Z. Incident diabetes associated with hydroxychloroquine, methotrexate, biologics and glucocorticoids in rheumatoid arthritis: A systematic review and meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum*. **2020**;50(4):598–607.
172. Zampeli E, Vlachoyiannopoulos PG, Tzioufas AG. Treatment of rheumatoid arthritis: Unraveling the conundrum. *J Autoimmun*. **2015**;65:1–18.
173. Burmester GR, Pope JE. Novel treatment strategies in rheumatoid arthritis. *Lancet*. **2017**;389(10086):2338-48.
174. England BR, Tiong BK, Bergman MJ, Curtis JR, Kazi S, Mikuls TR, *et al*. 2019 Update of the American College of Rheumatology Recommended Rheumatoid Arthritis Disease Activity Measures. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. **2019**;71(12):1540–55.
175. Pisaniello HL, Whittle SL, Lester S, Menz F, Metcalf R, McWilliams L, *et al*. Using the derived 28-joint disease activity score patient-reported components (DAS28-P) index as a discriminatory measure of response to disease-modifying anti-rheumatic drug therapy in early rheumatoid arthritis. *BMC Rheumatol*. **2022**;6(1):67.
176. Küçükdeveci AA. Nonpharmacological treatment in established rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. **2019**;33(5):101482.
177. Vliet Vlieland TPM, Pattison D. Non-drug therapies in early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. **2009**;23(1):103–16.
178. Azeez M, Clancy C, O’Dwyer T, Lahiff C, Wilson F, Cunnane G. Benefits of exercise in patients with rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial of a patient-specific exercise programme. *Clin Rheumatol*. **2020**;39(6):1783–92.
179. Agca R, Heslinga SC, Rollefstad S, Heslinga M, McInnes IB, Peters MJL, *et al*. EULAR recommendations for cardiovascular disease risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory joint disorders: 2015/2016 update. *Ann Rheum Dis*. **2017**;76(1):17–28.
180. Raad T, Griffin A, George ES, Larkin L, Fraser A, Kennedy N, *et al*. Dietary Interventions with or without Omega-3 Supplementation for the Management of Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *Nutrients*. **2021**;13(10):3506.
181. Khanna S, Jaiswal KS, Gupta B. Managing Rheumatoid Arthritis with Dietary Interventions. *Front Nutr*. **2017**;4:52.

182. Nikiphorou E, Philippou E. Nutrition and its role in prevention and management of rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev.* **2023**;22(7):103333.
183. Gioxari A, Kaliora AC, Marantidou F, Panagiotakos DP. Intake of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids in patients with rheumatoid arthritis: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition.* **2018**; 45:114-124.e4.
184. Sanchez P, Letarouilly J-G, Nguyen Y, Sigaux J, Barnetche T, Czernichow S, *et al.* Efficacy of Probiotics in Rheumatoid Arthritis and Spondyloarthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients.* **2022**;14(2):354.
185. Ferro M, Charneca S, Dourado E, Guerreiro CS, Fonseca JE. Probiotic Supplementation for Rheumatoid Arthritis: A Promising Adjuvant Therapy in the Gut Microbiome Era. *Front Pharmacol.* **2021**;12:711788.
186. Zeng L, Deng Y, He Q, Yang K, Li J, Xiang W, *et al.* Safety and efficacy of probiotic supplementation in 8 types of inflammatory arthritis: A systematic review and meta-analysis of 34 randomized controlled trials. *Front Immunol.* **2022**;13:961325.
187. Al-Qubaeissy KY, Fatoye FA, Goodwin PC, Yohannes AM. The effectiveness of hydrotherapy in the management of rheumatoid arthritis: A systematic review. *Musculoskeletal Care.* **2013**;11(1):3–18.
188. Siqueira US, Orsini Valente LG, de Mello MT, Szejnfeld VL, Pinheiro MM. Effectiveness of aquatic exercises in women with rheumatoid arthritis: A randomized, controlled, 16-week intervention-the HydRA trial. *Am J Phys Med Rehabil.* **2017**;96(3):167–75.
189. Grosser T, Ricciotti E, FitzGerald GA. Pharmacotherapy of Inflammation, Fever, Pain, and Gout. In: Brunton LL, Knollmann BC. eds. *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 14th ed. Mc Graw Hill; **2023**. p. 831–9.
190. Negm AA, Furst DE. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, Disease-Modifying Antirheumatic Drugs, Nonopioid Analgesics, & Drugs Used in Gout. In: Katzung BG. eds. *Basic & Clinical Pharmacology*. 14th ed. New York: Mc Graw Hill; 2018. p. 643–7.
191. Bonnesen K, Schmidt M. Recategorization of non-aspirin nonsteroidal anti-inflammatory drugs according to clinical relevance: Abandoning the traditional NSAID terminology. *Can J Cardiol.* **2021**;37(11):1705–7.
192. Talana A, Dietrich E. Anti-inflammatory, Antipyretic, and Analgesic Agents. In: Whalen K, editor. *Lippincott: Illustrated reviews: Immunology*. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; **2019**. p. 509.
193. Gupta R, Gauri, Sharma R. Advancement in the management of rheumatoid arthritis. *RPS Pharmacol Rep.* **2023**;2(1)
194. Sohail R, Mathew M, Patel KK, Reddy SA, Haider Z, Naria M, *et al.* Effects of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs) and Gastroprotective NSAIDs on the Gastrointestinal Tract: A Narrative Review. *Cureus.* **2023**;(15)4.
195. Reichardt SD, Amouret A, Muzzi C, Vettorazzi S, Tuckermann JP, Lühder F, *et al.* The Role of Glucocorticoids in Inflammatory Diseases. *Cells.* **2021**;10(11):2921.
196. Nikas SN. Long-term treatment with low dose glucocorticoids in Rheumatoid Arthritis: New tricks of an old drug. *Mediterr J Rheumatol.* **2018**;29(1):13–6.

197. Williams DM. Clinical pharmacology of corticosteroids. *Respir Care*. **2018**;63(6):655–70.
198. Hodgens A, Sharman T. Corticosteroids [Internet]. Treasure Island (FL): *StatPearls Publishing*; **2023** [citado 2024 Fev 5]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554612/>
199. Miller S, Whalen K. Adrenal Hormones. In: Feild C, Radhakrishnan R, editors. Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology. 7th ed. Baltimore, MD: Wolters Kluwer Health; **2019**. p. 340–5.
200. Hupfeld CJ, Iñiguez-Lluhí JA. Adrenocorticotrophic Hormone, Adrenal Steroids, and the Adrenal Cortex. In: Brunton L, Knollmann B, editors. Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 14th ed. Columbus, OH: McGraw-Hill Education; 2022. p. 1012–3.
201. Whittle SL, Richards BL, Buchbinder R. Opioid analgesics for rheumatoid arthritis pain. *JAMA*. **2013**;309(5):485-6.
202. Yang J, Bauer BA, Wahner-Roedler DL, Chon TY, Xiao L. The Modified WHO Analgesic Ladder: Is It Appropriate for Chronic Non-Cancer Pain?. *J Pain Res*. **2020**; 13:411–7.
203. Mathias K, Amarnani A, Pal N, Karri J, Arkfeld D, Hagedorn JM, *et al*. Chronic Pain in Patients with Rheumatoid Arthritis *Curr Pain Headache Rep*. **2021**;25(9).
204. Sánchez-Flórez JC, Seija-Butnaru D, Valero EG, Acosta C del PA, Amaya S. Pain Management Strategies in Rheumatoid Arthritis: A Narrative Review. *J Pain Palliat Care Pharmacother*. **2021**;35(4):291–9.
205. Li L, Marozoff S, Lu N, Xie H, Kopec JA, Cibere J, *et al*. Association of tramadol with all-cause mortality, cardiovascular diseases, venous thromboembolism, and hip fractures among patients with osteoarthritis: a population-based study. *Arthritis Res Ther*. **2022**;24(1):114.
206. Gau S-Y, Huang J-Y, Wei JC-C. Tramadol use increases mortality and risk of major adverse cardiovascular events in rheumatoid arthritis patients: evidence from a population-based cohort study. *Eur J Prev Cardiol*. **2022**;29(6).
207. Veiga DR, Monteiro-Soares M, Mendonça L, Sampaio R, Castro-Lopes JM, Azevedo LF. Effectiveness of Opioids for Chronic Noncancer Pain: A Two-Year Multicenter, Prospective Cohort Study With Propensity Score Matching. *J Pain*. **2019**;20(6):706–15.
208. Krebs EE, Gravely A, Nugent S, Jensen AC, DeRonne B, Goldsmith ES, *et al*. Effect of Opioid vs Nonopioid Medications on Pain-Related Function in Patients With Chronic Back Pain or Hip or Knee Osteoarthritis Pain: The SPACE Randomized Clinical Trial *JAMA*. **2018**;319(9):872-82.
209. Albrecht K, Marschall U, Callhoff J. Prescription of analgesics in patients with rheumatic diseases in Germany: A claims data analysis. *Z Rheumatol*. **2021**;80(S2):68–75.
210. Kim SC, Solomon DH. Towards defining the safer use of opioids in rheumatology. *Nat Rev Rheumatol*. **2020**;16(2):71–2.
211. Padjen I, Reihl Crnogaj M, Anić B. Conventional disease-modifying agents in rheumatoid arthritis – a review of their current use and role in treatment algorithms. *Reumatologia*. **2020**;58(6):390–400.

212. Talana A, Dietrich E. Anti-inflammatory, Antipyretic, and Analgesic Agents. In: Whalen K, editor. *Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology*. 7th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; **2018**. p. 518–22.
213. Negm AA, Furst DE. NSAIDs, Antirheumatic Drugs, Nonopioid Analgesics, & Drugs Used in Gout. In: Katzung BG, editor. *Basic & Clinical Pharmacology: A Lange Medical Book*. 14th ed. New York, NY: McGraw-Hill; **2018**. p. 649–58
214. Yamashita M. Auranofin: Past to present, and repurposing. *Int Immunopharmacol*. **2021**;101(Pt B):108272.
215. Mejias SG, Ramphul K. Penicillamine [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; **2023** [citado 2024 Fev 24]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513316>
216. Sahni K. Minocycline (Minocin) [Internet]. *Rheumatology.org*. **2024** [citado 2024 Fev 8]. Disponível em: <https://rheumatology.org/patients/minocycline-minocin>
217. Tapia C, Nessel TA, Zito PM. Cyclosporine [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; **2023** [citado 2024 Fev 24]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482450/>
218. Mohammadi O, Kassim TA. Azathioprine [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; **2023** [citado 2024 Fev 24]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542190/>
219. Zhao Z, Hua Z, Luo X, Li Y, Yu L, Li M, *et al*. Application and pharmacological mechanism of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Biomed Pharmacother*. **2022**;150:113074.
220. Schwinghammer T. Rheumatoid Arthritis. In: Schwinghammer T, DiPiro J, Ellingrod V, DiPiro C, editors. *Pharmacotherapy handbook*. 11th ed. Columbus, OH: McGraw-Hill Education; **2021**. p. 35–49.
221. Kellner H, Bornholdt K, Hein G. Leflunomide in the treatment of patients with early rheumatoid arthritis—results of a prospective non-interventional study. *Clin Rheumatol*. **2010**;29(8):913–20.
222. Guo Q, Wang Y, Xu D, Nossent J, Pavlos NJ, Xu J. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. *Bone Res*. **2018**;6(1):15.
223. Choi J, Fenando A. Sulfasalazine.. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; **2024** [citado 2024 Fev 24] Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557809/>
224. Bonek K, Roszkowski L, Massalska M, Maslinski W, Ciechomska M. Biologic Drugs for Rheumatoid Arthritis in the Context of Biosimilars, Genetics, Epigenetics and COVID-19 Treatment. *Cells*. **2021**;10(2):323.
225. Scott DL. Biologics-based therapy for the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Pharmacol Ther*. **2012**;91(1):30–43.
226. Pile KD, Graham GG, Mahler SM. Disease-Modifying Antirheumatic Drugs: Overview. In: Parnham MJ, editor. *Compendium of inflammatory diseases*. 1st ed. Basel, Switzerland:Springer; **2016**. p. 464–75.
227. Taylor PC, Matucci Cerinic M, Alten R, Avouac J, Westhovens R. Managing inadequate response to initial anti-TNF therapy in rheumatoid arthritis: optimising treatment outcomes. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. **2022**;14:1759720X2211141.

228. Keystone EC, Ware CF. Tumor necrosis factor and anti-tumor necrosis factor therapies. *J Rheumatol Suppl.* **2010**;85(0):27–39.
229. Monaco C, Nanchahal J, Taylor P, Feldmann M. Anti-TNF therapy: past, present and future. *Int Immunol.* 2015;27(1):55-62.
230. Caminero A, Comabella M, Montalban X. Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), anti-TNF- $\alpha$  and demyelination revisited: An ongoing story. *J Neuroimmunol.* **2011**;234(1–2):1–6.
231. Díaz-González F, Bustabad-Reyes S. Biosimilars, a new era in rheumatology in Spain. *Reumatol Clín (Engl Ed).* **2020**;16(2):131–2.
232. Ascef BO, Almeida MO, Medeiros-Ribeiro AC, Oliveira de Andrade DC, Oliveira Junior HA, de Soárez PC. Therapeutic equivalence of biosimilar and reference biologic drugs in rheumatoid arthritis: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw Open.* **2023**;6(5).
233. Smolen JS, Landewé RBM, Bergstra SA, Kerschbaumer A, Sepriano A, Aletaha D, *et al.* EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2022 update. *Ann Rheum Dis.* **2023**;82(1):3–18.
234. Morinobu A. JAK inhibitors for the treatment of rheumatoid arthritis. *Immunol Med.* **2020**;43(4):148–55.
235. Tanaka Y. Recent progress in treatments of rheumatoid arthritis: an overview of developments in biologics and small molecules and remaining unmet needs. *Rheumatology (Oxford).* **2021**;60(Suppl 6)–20.
236. George G, Shyni GL, Raghu KG. Current and novel therapeutic targets in the treatment of rheumatoid arthritis. *Inflammopharmacology.* **2020**;28(6):1457–76.
237. Mysler E, Caubet M, Lizarraga A. Current and Emerging DMARDs for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Open Access Rheumatol.* **2021**;13:139–52.
238. Szekanecz Z, Buch MH, Charles-Schoeman C, Galloway J, Karpouzas GA, Kristensen LE, *et al.* Efficacy and safety of JAK inhibitors in rheumatoid arthritis: update for the practising clinician. *Nat Rev Rheumatol.* **2024**;20(2):101–15.
239. Massalska M, Maslinski W, Ciechomska M. Small Molecule Inhibitors in the Treatment of Rheumatoid Arthritis and Beyond: Latest Updates and Potential Strategy for Fighting COVID-19. *Cells.* **2020**;9(8):1876.
240. Urits I, Israel J, Hakobyan H, Yusin G, Lassiter G, Fackler N, *et al.* Baricitinib for the treatment of rheumatoid arthritis. *Reumatologia.* **2020**;58(6):407–15.
241. Jegatheeswaran J, Turk M, Pope JE. Comparison of Janus kinase inhibitors in the treatment of rheumatoid arthritis: a systemic literature review. *Immunotherapy.* **2019**;11(8):737–54.
242. European Medicines Agency (EMA). Summary of product characteristics: Rinvoq [Internet]. Europa.eu; **2019** [citado 2024 Mar 7]. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/rinvoq-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/rinvoq-epar-product-information_en.pdf)
243. Kim ES, Keam SJ. Filgotinib in Rheumatoid Arthritis: A Profile of Its Use. *Clin Drug Investig.* **2021**;41(8):741–9.

244. Combe B, Kivitz A, Tanaka Y, *et al.* Filgotinib versus placebo or adalimumab in patients with rheumatoid arthritis and inadequate response to methotrexate: a phase III randomised clinical trial. *Ann Rheum Dis.* **2021**; 80(7):848-58.
245. Mucke J, Krusche M, Burmester GR. A broad look into the future of rheumatoid arthritis. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* **2022**; 14:1759720X2210762.
246. Bessette L, Haraoui B, Rampakakis E, Dembowy J, Trépanier M-O, Pope J. Effectiveness of a treat-to-target strategy in patients with moderate to severely active rheumatoid arthritis treated with abatacept. *Arthritis Res Ther.* **2023**;25(1):183.
247. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *Lancet.* **2016**;388(10055):2023–38.
248. Canhão H, Faustino A, Fonseca JE. Registo nacional de doentes reumáticos [Internet]. Reuma.pt. [citado 2024 Mar 11]. Disponível em: [https://reuma.pt/pt\\_PT/docs/ONDOR\\_reumapt.pdf](https://reuma.pt/pt_PT/docs/ONDOR_reumapt.pdf)
249. Clinical Review Report: Baricitinib (Olumiant) (Eli Lilly Canada Inc.) Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; **2019** Sep. Appendix 5, Validity of Outcome Measures. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549704>
250. Babaahmadi M, Tayebi B, Gholipour NM, Kamardi MT, Heidari S, Baharvand H, *et al.* Rheumatoid arthritis: the old issue, the new therapeutic approach. *Stem Cell Res Ther.* **2023**;14(1):268.
251. Watanabe R, Okano T, Gon T, Yoshida N, Fukumoto K, Yamada S, *et al.* Difficult-to-treat rheumatoid arthritis: Current concept and unsolved problems. *Front Med (Lausanne).* **2022**;9:1049875.
252. Sarsenova M, Issabekova A, Abisheva S, Rutskaya-Moroshan K, Ogay V, Saparov A. Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy for Rheumatoid Arthritis. *Int J Mol Sci.* **2021**;22(21):11592.
253. Harna B, Kalra P, Arya S, Jeyaraman N, Nallakumarasamy A, Jeyaraman M, *et al.* Mesenchymal stromal cell therapy for patients with rheumatoid arthritis. *Exp Cell Res.* **2023**;423(1):113468.
254. Munir H, McGettrick HM. Mesenchymal Stem Cell Therapy for Autoimmune Disease: Risks and Rewards. *Stem Cells Dev.* **2015**;24(18):2091–100.
255. Babaahmadi M, Tayebi B, Gholipour NM, Bendele P, Pheneger J, Kheimeh A, *et al.* Long-term passages of human clonal mesenchymal stromal cells can alleviate the disease in the rat model of collagen-induced arthritis resembling early passages of different heterogeneous cells. *J Tissue Eng Regen Med.* **2022**;16(12):1261–75.
256. Ghoryani M, Shariati-Sarabi Z, Tavakkol-Afshari J, Mohammadi M. The Sufficient Immunoregulatory Effect of Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell Transplantation on Regulatory T Cells in Patients with Refractory Rheumatoid Arthritis. *J Immunol Res.* **2020**; 2020:1–8.
257. Tsiapalis D, Floudas A, Tertel T, Boerger V, Giebel B, Veale DJ, *et al.* Therapeutic Effects of Mesenchymal/Stromal Stem Cells and Their Derived Extracellular Vesicles in Rheumatoid Arthritis *Stem Cells Transl Med.* **2023**;12(12):849–62.
258. Zhu M, Ding Q, Lin Z, Fu R, Zhang F, Li Z, *et al.* New Targets and Strategies for Rheumatoid Arthritis: From Signal Transduction to Epigenetic Aspect. *Biomolecules.* **2023**;13(5):766.

259. Barik RR, Bhatt LK. Emerging epigenetic targets in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* **2021**;41(12):2047–67.
260. Yang C, Li D, Teng D, Zhou Y, Zhang L, Zhong Z, *et al.* Epigenetic Regulation in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol.* **2022**; 13:859400.
261. Ciechomska M, Roszkowski L, Maslinski W. DNA Methylation as a Future Therapeutic and Diagnostic Target in Rheumatoid Arthritis. *Cells.* **2019**;8(9):953
262. Fu L-H, Ma C-L, Cong B, Li S-J, Chen H-Y, Zhang J-G. Hypomethylation of proximal CpG motif of interleukin-10 promoter regulates its expression in human rheumatoid arthritis. *Acta Pharmacol Sin.* **2011**;32(11):1373–80.
263. Wang SS, Lewis MJ, Pitzalis C. DNA Methylation Signatures of Response to Conventional Synthetic and Biologic Disease-Modifying Antirheumatic Drugs (DMARDs) in Rheumatoid Arthritis. *Biomedicines.* **2023**;11(7):1987.
264. Ding Q, Hu W, Wang R, Yang Q, Zhu M, Li M, *et al.* Signaling pathways in rheumatoid arthritis: implications for targeted therapy. *Signal Transduct Target Ther.* **2023**;8(1):68.
265. Klein K, Gay S. Epigenetic modifications in rheumatoid arthritis, a review. *Curr Opin Pharmacol.* **2013**;13(3):420–5.
266. Grabiec AM, Korchynskiy O, Tak PP, Reedquist KA. Histone deacetylase inhibitors suppress rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte and macrophage IL-6 production by accelerating mRNA decay. *Ann Rheum Dis.* **2012**;71(3):424–31.
267. Prasad P, Verma S, Surbhi, Ganguly NK, Chaturvedi V, Mittal SA. Rheumatoid arthritis: advances in treatment strategies. *Mol Cell Biochem.* **2023**;478(1):69–88.
268. Gillespie J, Savic S, Wong C, Hempshall A, Inman M, Emery P, *et al.* Histone deacetylases are dysregulated in rheumatoid arthritis and a novel histone deacetylase 3–selective inhibitor reduces interleukin-6 production by peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* **2012**;64(2):418–22.
269. Steunou A-L, Rossetto D, Côté J. Regulating chromatin by histone acetylation. In: Workman JL, Abmayr SM, editors. *Fundamentals of Chromatin.* New York, NY: Springer New York; **2014.** p. 147–212.
270. Cunningham CC, Wade S, Floudas A, Orr C, McGarry T, Wade S, *et al.* Serum miRNA Signature in Rheumatoid Arthritis and "At-Risk Individuals" *Front Immunol.* **2021**; 12:633201.
271. Kmiołek T, Paradowska-Gorycka A. miRNAs as Biomarkers and Possible Therapeutic Strategies in Rheumatoid Arthritis. *Cells.* **2022**;11(3):452.
272. Qin S, Tang X, Chen Y, *et al.* mRNA-based therapeutics: powerful and versatile tools to combat diseases. *Sig Transduct Target Ther.* **2022**; 7:166.
273. Duroux-Richard I, Pers Y-M, Fabre S, Ammari M, Baeten D, Cartron G, *et al.* Circulating miRNA-125b is a potential biomarker predicting response to rituximab in rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm.* **2014**; 2014:342524.
274. Moran-Moguel MC, Petarra-del Rio S, Mayorquin-Galvan EE, Zavala-Cerna MG. Rheumatoid Arthritis and miRNAs: A Critical Review through a Functional View. *J Immunol Res.* **2018**; 2018:1–16.
275. Bae S-C, Lee YH. MiR-146a levels in rheumatoid arthritis and their correlation with disease activity: a meta-analysis. *Int J Rheum Dis.* **2018**;21(7):1335–42.

276. Peng X, Wang Q, Li W, Ge G, Peng J, Xu Y, et al. Comprehensive overview of microRNA function in rheumatoid arthritis. *Bone Res.* **2023**;11(1):8.
277. Wicks IP, Roberts AW. Targeting GM-CSF in inflammatory diseases. *Nat Rev Rheumatol.* **2016**;12(1):37–48.
278. Avci AB, Feist E, Burmester G-R. A Promising Target in Rheumatoid Arthritis Treatment: Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor. *Curr Treatm Opt Rheumatol.* **2015**;1(4):320–33.
279. Shiomi A, Usui T. Pivotal roles of GM-CSF in autoimmunity and inflammation. *Mediators Inflamm.* **2015**; 2015:1–13.
280. Crotti C, Agape E, Becciolini A, Biggioggero M, Favalli EG. Targeting Granulocyte-Monocyte Colony-Stimulating Factor Signaling in Rheumatoid Arthritis: Future Prospects. *Drugs.* **2019**;79(16):1741–55.
281. Taylor PC, Weinblatt ME, McInnes IB, Atsumi T, Strand V, Takeuchi T, et al. Anti-GM-CSF otilimab versus sarilumab or placebo in patients with rheumatoid arthritis and inadequate response to targeted therapies: a phase III randomised trial (contRAst 3). *Ann Rheum Dis.* **2023**;82(12):1527–37.
282. Nair JR, Edwards SW, Moots RJ. Mavrilimumab, a human monoclonal GM-CSF receptor- $\alpha$  antibody for the management of rheumatoid arthritis: a novel approach to therapy. *Expert Opin Biol Ther.* **2012**;12(12):1661–8.
283. Burmester GR, Weinblatt ME, McInnes IB, Porter D, Barbarash O, Vatutin M, et al. Efficacy and safety of mavrilimumab in subjects with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* **2013**;72(9):1445–52.
284. Burmester GR, McInnes IB, Kremer J, Miranda P, Korkosz M, Vencovsky J, et al. A randomised phase IIb study of mavrilimumab, a novel GM–CSF receptor alpha monoclonal antibody, in the treatment of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* **2017**; 76(6):1020–30.
285. Crotti C, Biggioggero M, Becciolini A, Agape E, Favalli EG. Mavrilimumab: a unique insight and update on the current status in the treatment of rheumatoid arthritis. *Expert Opin Investig Drugs.* **2019**;28(7):573–81.
286. Behrens F, Tak PP, Østergaard M, Stoilov R, Wiland P, Huizinga TW, et al. MOR103, a human monoclonal antibody to granulocyte–macrophage colony-stimulating factor, in the treatment of patients with moderate rheumatoid arthritis: results of a phase Ib/IIa randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Ann Rheum Dis.* **2015**;74(6):1058–64.
287. Buckley CD, Simón-Campos JA, Zhdan V, Becker B, Davy K, Fischeleva E, et al. Efficacy, patient-reported outcomes, and safety of the anti-granulocyte macrophage colony-stimulating factor antibody otilimab (GSK3196165) in patients with rheumatoid arthritis: a randomised, phase 2b, dose-ranging study. *Lancet Rheumatol.* **2020**;2(11): 677–88.
288. Fleischmann RM, van der Heijde D, Strand V, Atsumi T, McInnes IB, Takeuchi T, et al. Anti-GM-CSF otilimab versus tofacitinib or placebo in patients with active rheumatoid arthritis and an inadequate response to conventional or biologic DMARDs: two phase 3 randomised trials (contRAst 1 and contRAst 2). *Ann Rheum Dis.* **2023**; 82(12):1516–26.
289. Kim J, Jung KH, Yoo J, Park JH, Yan HH, Fang Z, et al. PBT-6, a Novel PI3KC2 $\gamma$  Inhibitor in Rheumatoid Arthritis. *Biomol Ther (Seoul).* **2020**;28(2):172–83.

290. Liu S, Ma H, Zhang H, Deng C, Xin P. Recent advances on signaling pathways and their inhibitors in rheumatoid arthritis. *Clin Immunol.* **2021**;230:108793.
291. Yu M, Chen J, Xu Z, Yang B, He Q, Luo P, *et al.* Development and safety of PI3K inhibitors in cancer. *Arch Toxicol.* **2023**;97(3):635–50.
292. Yang J, Nie J, Ma X, Wei Y, Peng Y, Wei X. Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials. *Mol Cancer.* **2019**;18(1):26.
293. Patel L, Chandrasekhar J, Evarts J, Forseth K, Haran AC, Ip C, *et al.* Discovery of Orally Efficacious Phosphoinositide 3-Kinase  $\delta$  Inhibitors with Improved Metabolic Stability. *J Med Chem.* **2016**;59(19):9228–42.
294. Liang T, Cen L, Wang J, Cheng M, Guo W, Wang W, *et al.* Discovery of novel dual Bruton's tyrosine kinase (BTK) and Janus kinase 3 (JAK3) inhibitors as a promising strategy for rheumatoid arthritis. *Bioorg Med Chem.* **2023**;96:117354.
295. Crawford JJ, Johnson AR, Misner DL, Belmont LD, Castanedo G, Choy R, *et al.* Discovery of GDC-0853: A Potent, Selective, and Noncovalent Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitor in Early Clinical Development *J Med Chem.* **2018**;61(6):2227–45.
296. Arneson LC, Carroll KJ, Ruderman EM. Bruton's Tyrosine Kinase Inhibition for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *ImmunoTargets Ther.* **2021**; 10:333–42.
297. Norman P. Investigational Bruton's tyrosine kinase inhibitors for the treatment of rheumatoid arthritis. *Expert Opin Investig Drugs.* **2016**;25(8):891–9.
298. Hendriks RW. New Btk inhibitor holds promise. *Nat Chem Biol.* **2011**;7(1):4–5.
299. PRN1008 is a Reversible Covalent and Oral Active Inhibitor of Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) [Internet]. Medchemexpress.com. **2019** [citado 2024 Apr 20]. Disponível em: <https://www.medchemexpress.com/literature/blog/prn1008-is-a-reversible-covalent-and-oral-active-inhibitor-of-bruton-s-tyrosine-kinase-btk.htm>
300. Ringheim GE, Wampole M, Oberoi K. Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) Inhibitors and Autoimmune Diseases: Making Sense of BTK Inhibitor Specificity Profiles and Recent Clinical Trial Successes and Failures *Front Immunol.* **2021**;12:662223.
301. Rozkiewicz D, Hermanowicz JM, Kwiatkowska I, Krupa A, Pawlak D. Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitors (BTKIs): Review of Preclinical Studies and Evaluation of Clinical Trials. *Molecules.* **2023**;28(5):2400.
302. Erickson RI, Schutt LK, Tarrant JM, McDowell M, Liu L, Johnson AR, *et al.* Bruton's Tyrosine Kinase Small Molecule Inhibitors Induce a Distinct Pancreatic Toxicity in Rats. *J Pharmacol Exp Ther.* **2017**;360(1):226–38.
303. Evans EK, Tester R, Aslanian S, Karp R, Sheets M, Labenski MT, *et al.* Inhibition of Btk with CC-292 provides early pharmacodynamic assessment of activity in mice and humans. *J Pharmacol Exp Ther.* **2013**;346(2):219–28.
304. Schafer PH, Kivitz AJ, Ma J, Korish S, Sutherland D, Li L, *et al.* Spebrutinib (CC-292) Affects Markers of B Cell Activation, Chemotaxis, and Osteoclasts in Patients with Rheumatoid Arthritis: Results from a Mechanistic Study. *Rheumatol Ther.* **2020**;7(1):101–19.
305. Buch C, Choy M, Schett E, Parsons-Rich G, Patel D, Zima A, *et al.* A Phase IIb, Randomized, Double-blind Study in Patients with Rheumatoid Arthritis Evaluating the Safety and Efficacy of Evobrutinib Compared with Placebo in Patients with an Inadequate Response to Methotrexate. *Arthritis Rheumatol.* **2020**;72( Suppl10).

306. Cohen S, Tuckwell K, Katsumoto TR, Zhao R, Galanter J, Lee C, *et al.* Cohen S, Tuckwell K, Katsumoto TR, *et al.* Fenebrutinib versus Placebo or Adalimumab in Rheumatoid Arthritis: A Randomized, Double-Blind, Phase II Trial (ANDES Study). *Arthritis Rheumatol.* **2020**;72(9):1435–46.
307. Gorantla S, Singhvi G, Rapalli VK, Waghule T, Dubey SK, Saha RN. Targeted drug-delivery systems in the treatment of rheumatoid arthritis: recent advancement and clinical status. *Ther Deliv.* **2020**;11(4):269–84.
308. Pirmardvand Chegini S, Varshosaz J, Taymouri S. Recent approaches for targeted drug delivery in rheumatoid arthritis diagnosis and treatment. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* **2018**;46(Suppl 2):502–14.
309. Logesh K, Raj B, Bhaskaran M, Thirumaleshwar S, Gangadharappa HV, Osmani RA, *et al.* Nanoparticulate drug delivery systems for the treatment of rheumatoid arthritis: A comprehensive review. *J Drug Deliv Sci Technol.* **2023**;81:104241.
310. Bhalekar M, Dubey S. Drug delivery systems for rheumatoid arthritis treatment. In: Mahajan NM, Saini A, Rautm NA, Dhoble SJ, editors. *Photophysics and Nanophysics in Therapeutics*. 1st ed. Elsevier; 2022. p. 312-26
311. Nasra S, Bhatia D, Kumar A. Recent advances in nanoparticle-based drug delivery systems for rheumatoid arthritis treatment. *Nanoscale Adv.* **2022**;4(17):3479–94.
312. Luiz MT, Abriata JP, Raspantini GL, Marchetti JM. Polymeric nanoparticles. In: Eloy JO, Abriata JP, Marchetti JM, editors. *Nanocarriers for Drug Delivery*. Cham: Springer International Publishing; 2021. p. 1-17.
313. Yadav HKS, Almokdad AA, Shaluf SIM, Debe MS. Polymer-based nanomaterials for drug-delivery carriers. In: Mohapatra SS, Ranjan S, Dasgupta N, Mishra RK, Thomas S, editors. *Nanocarriers for Drug Delivery*. Elsevier; **2019**. p. 531–56.
314. Parra A, Jarak I, Santos A, Veiga F, Figueiras A. Polymeric Micelles: A Promising Pathway for Dermal Drug Delivery. *Materials (Basel)*. **2021**;14(23):7278.
315. Ghezzi M, Pescina S, Padula C, Santi P, Del Favero E, Cantù L, *et al.* Polymeric micelles in drug delivery: An insight of the techniques for their characterization and assessment in biorelevant conditions. *J Control Release.* **2021**; 332:312–36.
316. Torchilin VP. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. *J Control Release* 2001;73(2–3):137–72.
317. Wang Q, Jiang J, Chen W, Jiang H, Zhang Z, Sun X. Targeted delivery of low-dose dexamethasone using PCL–PEG micelles for effective treatment of rheumatoid arthritis. *J Control Release.* **2016**; 230:64–72.
318. Wang Y, Liu Z, Li T, Chen L, Lyu J, Li C, *et al.* Enhanced Therapeutic Effect of RGD-Modified Polymeric Micelles Loaded With Low-Dose Methotrexate and Nimesulide on Rheumatoid Arthritis. *Theranostics.* **2019**;9(3):708–20.
319. Zhao J, Chen X, Ho K-H, Cai C, Li C-W, Yang M, *et al.* Nanotechnology for diagnosis and therapy of rheumatoid arthritis: Evolution towards theranostic approaches. *Chin Chem Lett.* **2021**;32(1):66–86.
320. Miranda MA, de Araujo MM, Gaspari AR, Silva LB, Carvalho IPS, Campos JCL, *et al.* Lipid nanocarriers. In: Eloy JO, Abriata JP, Marchetti JM, editors. *Nanocarriers for Drug Delivery: Concepts and Applications*. Cham: Springer International Publishing; **2021**. p. 19-47.

321. Xu Y, Zhao M, Cao J, Fang T, Zhang J, Zhen Y, *et al.* Applications and recent advances in transdermal drug delivery systems for the treatment of rheumatoid arthritis. *Acta Pharm Sin B*, **2023**;13(11):4417–41.
322. Garg A, Kokkoli E. pH-Sensitive PEGylated Liposomes Functionalized with a Fibronectin-Mimetic Peptide Show Enhanced Intracellular Delivery to Colon Cancer Cells. *Curr Pharm Biotechnol*. **2011**;12(8):1135–43.
323. ElBayoumi TA, Torchilin VP. Current trends in liposome research. In: Weissig V, editor. *Liposomes. Methods in Molecular Biology*, vol. 605. Humana Press; **2010**.p. 1–27
324. Jia M, Deng C, Luo J, Zhang P, Sun X, Zhang Z, *et al.* A novel dexamethasone-loaded liposome alleviates rheumatoid arthritis in rats. *Int J Pharm*. **2018**;540(1–2):57–64.
325. Shen Q, Shu H, Xu X, Shu G, Du Y, Ying X. Tofacitinib citrate-based liposomes for effective treatment of rheumatoid arthritis. *Pharmazie*. **2020**;75(4):131–5.
326. Zewail M. Folic acid decorated chitosan-coated solid lipid nanoparticles for the oral treatment of rheumatoid arthritis. *Ther Deliv*. **2021**;12(4):297–310.
327. Mukherjee S, Ray S, Thakur RS. Solid lipid nanoparticles: A modern formulation approach in drug delivery system. *Indian J Pharm Sci*. **2009**;71(4):349–58.
328. Khan S, Sharma A, Jain V. An Overview of Nanostructured Lipid Carriers and its Application in Drug Delivery through Different Routes. *Adv Pharm Bull*. **2023**;13(3):446–60.
329. Garg J, Pathania K, Sah SP, Pawar SV. Nanostructured lipid carriers: a promising drug carrier for targeting brain tumours. *Futur J Pharm Sci*. **2022**;8(1).
330. Pathak K, Keshri L, Shah M. Lipid nanocarriers: Influence of lipids on product development and pharmacokinetics. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 2011;28(4):357–93.
331. Kawadkar J, Pathak A, Kishore R, Chauhan MK. Formulation, characterization and *in vitro*–*in vivo* evaluation of flurbiprofen-loaded nanostructured lipid carriers for transdermal delivery. *Drug Dev Ind Pharm*. **2013**;39(4):569–78.
332. Lee D, Ko WK, Kim SJ, *et al.* Inhibitory Effects of Gold and Silver Nanoparticles on the Differentiation into Osteoclasts In Vitro. *Pharmaceutics*. **2021**;13(4):462.
333. Lee H, Lee M-Y, Bhang SH, Kim B-S, Kim YS, Ju JH, *et al.* Hyaluronate–gold nanoparticle/tocilizumab complex for the treatment of rheumatoid arthritis. *ACS Nano*. **2014**;8(5):4790–8.
334. Tański W. The Role of Clinical Activity, Loneliness, and Satisfaction with e-Health Services as Factors Affecting Quality of Life in Patients with Rheumatoid Arthritis During the SARS-CoV-2 Pandemic. *Psychol Res Behav Manag*. **2021**; 14:1581–90.
335. Assembleia da República. Portaria no. 48/2016. Diário da República, 1ª série — No 57. **2016**;912-4.
336. Infarmed IP. Declaração da retificação da deliberação no70/CD/2020 de 3 de Setembro [Internet]. **2020**. Disponível em: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/3497612/Dec.Ret\\_Deliberacao\\_070\\_CD\\_2020.pdf/5f738b4f-6bc1-6aca-7a7e-70884736fbb2](https://www.infarmed.pt/documents/15786/3497612/Dec.Ret_Deliberacao_070_CD_2020.pdf/5f738b4f-6bc1-6aca-7a7e-70884736fbb2)
337. Kunter İ, Balogun HO, Şahin G. The role of the pharmacist from development to pharmacovigilance of biosimilars. *J Res Pharm*. **2018**;22(1):14–8.

338. Davis EM Packard KA, Jackevicius CA. The pharmacist role in predicting and improving medication adherence in heart failure patients. *J Manag Care Pharm.* **2014**;20(7):741–55.
339. Naqvi AA, Hassali MA, Naqvi SBS, Aftab MT. Impact of pharmacist educational intervention on disease knowledge, rehabilitation and medication adherence, treatment-induced direct cost, health-related quality of life and satisfaction in patients with rheumatoid arthritis: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* **2019**;20(1):488.
340. Ordem dos Farmacêuticos. A Farmácia Comunitária [Internet]. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos; [citado 2024 Maio 7]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
341. Assembleia da República. Portaria nº281/2017. Diário da República, 1ª série — No 183. **2017**; 5494 –5
342. Ordem dos Farmacêuticos. Que cuidados observar na dispensa de metotrexato para tratamento de doenças autoimunes? [Internet]. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos; 2020 [citado 2024 Maio 8]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/artigos/que-cuidados-observar-na-dispensa-de-metotrexato-para-tratamento-de-doencas-autoimunes/>