



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO MINISTRO PETRÔNIO PORTELLA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE GENOTOXICIDADE EM PORTADORES DE  
DOENÇA DE CROHN SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM INFLIXIMABE E  
ASSOCIAÇÕES**

**PAULO LEAL PEREIRA**

**TERESINA – PIAUÍ  
Agosto/2018**

**PAULO LEAL PEREIRA**

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE GENOTOXICIDADE EM PORTADORES DE  
DOENÇA DE CROHN SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM INFLIXIMABE E  
ASSOCIAÇÕES**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí, para defesa como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Orientador: Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes**  
**Co-orientadora: Profa. Dra. Hilris Rocha e Silva**

TERESINA – PIAUÍ  
Agosto/2018

**PAULO LEAL PEREIRA**

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE GENOTOXICIDADE EM PORTADORES DE  
DOENÇA DE CROHN SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM INFLIXIMABE E  
ASSOCIAÇÕES**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí, para defesa como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes (Orientador)**

Coordenação do curso de Farmácia – UFPI

---

**Profa. Dr. Hilris Rocha e Silva (Co-orientadora)**

Coordenação do curso de Farmácia – UFPI

---

**Prof. Dr. Anderson Nogueira Mendes**

Departamento de Fisiologia/Biofísica - UFPI

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**

**REITOR**

Prof. Dr. José, de Arimatéia Dantas Lopes

**VICE-REITOR**

Profa. Dra. Nadir, do Nascimento Nogueira

**PRÓ-REITOR DE ENSINO E PÓS-GRADUAÇÃO**

Profa. Dra. Regina Lúcia Ferreira Gomes

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Prof. Dr. Viriato Campelo

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

Profa. Dra. Marcília Pinheiro da Costa

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ser essencial em minha vida, autor do meu destino, iluminou o meu caminho e sempre me deu coragem para questionar realidades e propor sempre um novo mundo de possibilidades;

Aos meus pais, Miguel Pereira e Maria Rita, formadores do meu caráter e da minha dignidade;

Às minhas filhas, Reyslla Vitória e Isabelle, por me tornarem mais humano;

Aos meus irmãos José de Anchieta, Angélica, Maria de Jesus, Reis, Rosa Amélia e Ana Nery pelo carinho transmitido em todos os momentos, inclusive nos que não estamos juntos;

A minha noiva Alice pelo carinho e companheirismo a mim dedicado;

Aos meus colegas de trabalho pelo companheirismo e motivação que sempre me transmitiram;

A todos os meus familiares e amigos que fizeram parte desses momentos, sempre me ajudando e incentivando;

À Universidade Federal do Piauí, na pessoa do Magnífico Reitor Prof. Dr. José de Arimatéia Dantas Lopes;

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Federal do Piauí, na pessoa do Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Federal do Piauí pelo empenho em compartilhar seus conhecimentos;

À Unidade de Gastroenterologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Piauí, local que possibilitou a realização do trabalho;

Aos pacientes pela enorme contribuição e confiança depositada em mim, sem eles este trabalho não seria possível;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes, pela maestria e tranqüilidade com que soube conduzir este trabalho;

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Hilris Rocha e Silva, pelo carinho e prontidão com que sempre atendeu às minhas solicitações;

À aluna de graduação e Iniciação Científica Ludmila, pelo comprometimento e enorme contribuição que me deu na execução deste projeto;

À doutoranda Aninha, pela atenção e serenidade em auxiliar nas atividades do LAPGENIC;

À Residente de Farmácia Bianca e demais acadêmicos do projeto ATENFAR, pela ajuda na coleta de dados;

Aos colegas da turma 2016 do PPGCF – UFPI, pelos momentos de alegria e aprendizado que compartilhamos nesta jornada.

“A missão de todos nós é agregar valor à vida, viver uma vida repleta de sentido e propósito.”

*(Carlos Hilsdorf)*

## **Avaliação do perfil de genotoxicidade em portadores de Doença de Crohn submetidos ao tratamento com infliximabe e associações. Paulo Leal Pereira.**

Orientador: Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes. 71p. Dissertação de defesa de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, 2018.

### **RESUMO**

A doença de Crohn (DC) é uma condição crônica, transmural, imunomediada, que afeta o trato gastrointestinal com potencial de envolvimento de vários órgãos com manifestações extraintestinais. A etiologia da DC permanece incerta, mas acredita-se ser multifatorial com fatores ambientais, genéticos e imunológicos associados. Apresenta-se sob três formas principais: inflamatória, fistulosa e fibroestenotante. Grande parte dos pacientes necessita de tratamento medicamentoso prolongado e, muitas vezes, por tempo indeterminado. O acompanhamento desses pacientes é fundamental para garantir a sua segurança, e a verificação de possíveis reações adversas torna-se ponto chave dentro do acompanhamento farmacoterapêutico, que deve ser realizado sobre todos os aspectos, inclusive considerando a possibilidade de danos ao material genético do paciente. O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o potencial de genotoxicidade do infliximabe quando utilizado isoladamente ou em associação com azatioprina, mesalazina, sulfasalazina e prednisona no tratamento de pacientes portadores de DC assistidos pelo Hospital Universitário Da Universidade Federal do Piauí – HU-UFPI. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética do HU-UFPI (Parecer nº67293517.0.0000.8050) e foi feita a partir de um estudo experimental, descritivo e observacional. A pesquisa foi realizada no período de fevereiro a abril 2018, através da coleta de amostra de mucosa bucal de 40 pacientes com DC que fazem infusão de infliximabe e acompanhamento farmacoterapêutico no HU-UFPI. Foram observadas correlações positivas entre os esquemas terapêuticos utilizados com formação de micronúcleos, indução de apoptose, faixa etária e tempo de tratamento dos pacientes analisados. O esquema terapêutico mais encontrado foi de infliximabe associado com azatioprina. O perfil de pacientes do presente estudo foi de indivíduos com prevalência do gênero masculino, cor autodeclarada parda, graus de escolaridades e ocupações variadas, a maioria com estado civil casado, oriundos em sua grande maioria de Teresina e cidades do interior do Piauí, tendo uma parcela significativa de usuários oriundos do estado do Maranhão.

**Palavras chaves:** Pesquisa Clínica; Doença Inflamatória Intestinal; Farmacoterapia; Atenção Farmacêutica

**Evaluation of genotoxicity profile in patients with Crohn 's disease submitted to treatment with infliximab and combinations. Paulo Leal Pereira.** Advisor: Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes. 71p. Master thesis dissertation. Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Piauí, 2018.

### **ABSTRACT**

Crohn's disease (CD) is an inflammatory bowel disease of unknown origin, characterized by focal, asymmetrical and transmural involvement of any portion of the digestive tract, from the mouth to the anus. It is presented in three main forms: inflammatory, fistulous and fibrostenosante. Most patients require prolonged and often undetermined drug treatment. The follow-up of these patients is essential to ensure their safety, and the verification of these reactions becomes a key point in the pharmacotherapeutic follow-up that must be performed on all aspects, including considering the possibility of damages to the genetic material of the patient. The general objective of this study was to evaluate the potential for genotoxicity of Infliximab when used in combination with azathioprine, mesalazine, sulfasalazine and prednisone in the treatment of patients with Crohn 's disease attended by the Hospital Universitário da Universidade Federal do Piauí - HU UFPI. The research was approved by the Ethics Committee of the HUUFPI (Opinion No. 67293517.0.0000.8050) and was made from an experimental, descriptive and observational study. The research was carried out from February to April 2018, through the collection of buccal mucosa sample of 40 patients with CD who infuse infliximab and pharmacotherapeutic monitoring in HU-UFPI. Positive correlations were observed between the therapeutic regimens used with formation of micronuclei, induction of apoptosis, age range and time of treatment of the patients analyzed. The profile of patients in the present study was of individuals with a male gender, brown ethnicity, varying degrees of schooling and occupations, most of them married, mostly from Teresina and cities in the interior of Piauí, with a significant share of users from the state of Maranhão.

**Key words:** Clinical research; Inflammatory Bowel Disease; Pharmacotherapy; Pharmaceutical attention

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Interação entre os vários fatores responsáveis pelo desenvolvimento da DC.

**Figura 2.** Principais locais de acometimento da DC.

**Figura 3.** Distribuição da DC no mundo.

**Figura 4.** Estratégia de tratamento na DC.

**Figura 5.** Representação esquemática dos estágios da carcinogênese.

**Figura 6.** Esquema representativo do processo de pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos.

**Figura 7.** Micronúcleo.

**Figura 8.** Avaliação de células de mucosa bucal pelo teste micronúcleo.

**Figura 9.** Diferenças entre os sexos masculino (n=35) e feminino (n=15) em relação micronúcleos (**A**), células binucleadas (**B**), cariorrexe (**C**) e cariólise (**D**).

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Tratamento convencional da DC e respectivos mecanismos de ação

**Tabela 2.** Gênero dos participantes

**Tabela 3.** Faixa etária

**Tabela 4.** Estado civil

**Tabela 5.** Grau de instrução

**Tabela 6.** Raça

**Tabela 7.** Naturalidade

**Tabela 8.** Ocupações

**Tabela 9.** Fármacos utilizados pelos pacientes participantes da pesquisa

**Tabela 10.** Tempo em Tratamento

**Tabela 11.** Consumo de bebida alcoólica

**Tabela 12.** Consumo de verduras e frutas

**Tabela 13 -** Correlações de *Pearson r* significantes entre os biomarcadores do ensaio micronúcleo e parâmetros sócio-culturais e de saúde em pacientes em terapias para DC.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AINE's</b>	Antiinflamatórios não esteroides
<b>ANTI-TNF</b>	Anticorpo contra o fator de necrose tumoral
<b>AZA</b>	Azatioprina
<b>CEP</b>	Comitê de Ética em Pesquisa
<b>CONITEC</b>	Comitê Nacional de Inclusão de Tecnologias no SUS
<b>COX 1</b>	Ciclooxigenase1
<b>COX 2</b>	Ciclooxigenase2
<b>CyA</b>	Ciclosporina
<b>DC</b>	Doença de Crohn
<b>DII</b>	Doença Inflamatória Intestinal
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>EBSERH</b>	Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
<b>EC</b>	Ensaio Cometa
<b>EMA</b>	Agência Européia de Medicamentos
<b>FDA</b>	FoodDrugsAdministration
<b>HU</b>	Hospital Universitário
<b>ICH</b>	Conferência Internacional de Harmonização dos Medicamentos de uso Humano
<b>IFX</b>	Infliximabe
<b>IM</b>	Intramuscular
<b>IV</b>	Intravenoso
<b>6-MP</b>	6-Mercaptopurina

<b>MN</b>	Micronúcleo
<b>MS</b>	Ministério da Saúde
<b>MSZ</b>	Mesalazina
<b>MTX</b>	Metotrexato
<b>MTZ</b>	Metronidazol
<b>PCDT</b>	Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas
<b>PDN</b>	Prednisona
<b>PMDA</b>	Agência Japonesa de Medicamentos e Dispositivos Médicos
<b>RAMs</b>	Reações Adversas a Medicamentos
<b>RCU</b>	Retocolite Ulcerativa
<b>SAS</b>	Secretaria de Assistência a Saúde
<b>SC</b>	Subcutâneo
<b>SUS</b>	Sistema Único de Saúde
<b>SSZ</b>	Sulfassalazina
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>TGI</b>	Trato Gastrointestinal
<b>TNF</b>	Fator de Necrose Tumoral
<b>TER</b>	Termo de Esclarecimento e Responsabilidade
<b>UFPI</b>	Universidade Federal do Piauí

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	6
<b>ABSTRACT</b> .....	7
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	16
2.1 Objetivo Geral .....	16
2.2 Objetivos Específicos .....	16
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
3.1 Doença de Crohn .....	17
3.2 Tratamento da Doença de Crohn .....	22
3.2.1 Tratamento farmacológico .....	23
3.3 Tratamento de indução e Remissão .....	35
3.4 Genotoxicidade .....	35
3.4.1 Genotoxicidade Humana .....	35
3.4.2 Genotoxicidade de Fármacos .....	36
3.4.3 Ensaios de genotoxicidade .....	39
<b>4 MATERIAL EMÉTODOS</b> .....	42
4.1 Tipo de estudo .....	42
4.2 Aspectos éticos .....	42
4.3 Local de estudo .....	42
4.4 Instrumentos .....	43
4.5 Critérios de inclusão .....	43
4.6 Critérios de exclusão .....	43
4.7 Coleta das amostras .....	44
4.8 Ensaios de genotoxicidade .....	44
4.8.1 Teste do Micronúcleo .....	44
4.9 Análise dos dados .....	45
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	46
5.1 Caracterização da Amostra .....	46
5.2 Análise de genotoxicidade .....	52
5.2.1 Teste do Micronúcleo .....	52
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	57
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	58
<b>ANEXO A- COMPROVAÇÃO DE SUBMISSÃO DE ARTIGO</b> .....	66
<b>ANEXO B- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA</b> .....	67
<b>ANEXO C- INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS - QUESTIONÁRIO PESSOAL</b> .....	68

## 1 INTRODUÇÃO

A doença de Crohn (DC) é uma condição crônica, transmural, imunomediada, que afeta o trato gastrointestinal com potencial de envolvimento de vários órgãos com manifestações extraintestinais. A etiologia da DC permanece incerta, mas acredita-se ser multifatorial com fatores ambientais, genéticos e imunológicos associados. A prevalência global é de 5 a 50 casos por 1.000 habitantes, com predomínio de caucasianos. Uma estimativa da prevalência no município de São Paulo, Brasil, relatou a ocorrência de 14,8 casos por 100.000 habitantes (SANTOS, et al, 2017). Porém, no Brasil, pacientes com DC e UC não são necessariamente relatados, resultando em falta de dados epidemiológicos em relação a essas doenças. Essa situação coloca os pacientes em um estado vulnerável, pois estudos incipientes e os maus registros de publicações sobre esse grupo de doenças contribuem para o diagnóstico tardio e aumento da morbidade (ARANTES et al, 2017).

Dentre as várias classificações propostas para UC e DC, a classificação de Montreal é a mais comumente utilizada, pois distingue os subfenótipos clínicos da DC de acordo com a localização, comportamento e idade no início dos sintomas e os da colite ulcerativa de acordo com a extensão da doença. Essa classificação é desejável para correlacionar fenótipos de doença específicos, com possíveis desfechos clínicos e prognósticos para selecionar uma melhor abordagem terapêutica e um acompanhamento mais apropriado para cada paciente (SANTOS et al, 2017). A definição de gravidade da doença é caracterizada através do Índice de Atividade da Doença de Crohn (CDAI) em leve, moderada, grave ou fulminante e serve de parâmetro para a escolha do tratamento. Grande parte dos pacientes necessita de tratamento medicamentoso prolongado e, muitas vezes, por tempo indeterminado (PAIXÃO et al, 2012).

Atualmente, o tratamento convencional é com base no uso de moduladores da inflamação como 5-aminossalicilatos, esteróides e imunossupressores. Porém, pacientes que falham no tratamento convencional, requerem uso de terapia imunobiológica, que são anticorpos monoclonais anti-TNF- $\alpha$ , importante citocina pró inflamatória envolvida na patogênese da DC. Atualmente, quatro drogas biológicas anti-TNF $\alpha$  foram aprovados para uso em DII: infliximabe, adalimumabe, certolizumabe e golimumab. O infliximabe é um anticorpo monoclonal quimérico

dirigido contra fator de necrose tumoral TNF- $\alpha$ , de 75% de origem humana e 25% de murino, cujo mecanismo de ação consiste em neutralização de TNF- $\alpha$  produzindo uma reação de citotoxicidade mediada por células e um aumento na morte celular ativado por linfócitos T8. Sua meia-vida é de 10 dias e a via de administração intravenosa (ROJAS, 2015).

Diferentes estudos demonstraram eficácia e segurança do infliximabe e adalimumabe em DII, alcançando a conformidade com os objetivos do tratamento modificando, assim, a evolução da doença. Embora em nosso país existam registros de empregos que avaliaram o uso dessas terapias em pacientes com DII, ainda há uma subutilização dessa estratégia terapêutica por medo de eventos adversos associados pelos altos custos do tratamento (ROJAS, 2015).

O uso continuado de medicamentos aumenta a ocorrência de reações adversas (RAM). Experiências mostram que muitas das RAM não são conhecidas antes da comercialização do fármaco porque a liberação de um medicamento para uso na população, envolve apenas a comprovação de uma eficácia aceitável com segurança mínima estabelecida para pré comercialização (MOURELLE et al, 2016). É recomendado que se façam avaliações sucessivas da relação risco/benefício das drogas sobre as condições reais da prática clínica de rotina, através de ensaios clínicos, de forma que evidências científicas decorrentes da farmacovigilância e da pesquisa pós-registro comprovem a segurança dos medicamentos (MOURELLE et al, 2016). O acompanhamento desses pacientes é fundamental para garantir a sua segurança e a verificação dessas reações, e deve ser realizada sobre todos os aspectos inclusive considerando a possibilidade de danos no material genético do paciente (COLLINS et al, 2008).

Neste contexto, este trabalho objetiva avaliar o potencial de genotoxicidade do imunobiológico infliximabe quando utilizado isoladamente ou em associação com azatioprina, mesalazina, sulfasalazina e prednisona no tratamento da Doença de Crohn, em pacientes assistidos pelo HU-UFPI; Analisar a frequência de micronúcleos e células binucleadas em células da mucosa bucal destes pacientes através do Teste de Micronúcleo e correlacioná-las com o esquema terapêutico e tempo de uso do mesmo; Analisar a influência do infliximabe usado isoladamente ou em associação com azatioprina, mesalazina, sulfasalazina e prednisona em um possível aumento da frequência de micronúcleos em células da mucosa bucal dos pacientes; Caracterizar os pacientes portadores de Doença de Crohn atendidos pelo

HU-UFPI no tocante a dados epidemiológicos e socioeconômicos e identificar os principais esquemas terapêuticos utilizados no tratamento da DC dos pacientes assistidos pelo HU-UFPI.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

- Avaliar o potencial de genotoxicidade do imunobiológico Infiximabe quando utilizado isodalmente ou em associação com Azatioprina, Mesalazina, Sulfasalazina e Prednisona no tratamento de pacientes portadores de Doença de Crohn assistidos pelo Hospital Universitário Da Universidade Federal do Piauí.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Caracterizar os pacientes portadores de Doença de Crohn atendidos pelo HU-UFPI no tocante a dados epidemiológicos e socioeconômicos;

- Identificar os principais esquemas terapêuticos adotados no tratamento da DC dos pacientes assistidos pelo HU-UFPI

- Analisar a frequência de micronúcleos e células binucleadas em células da mucosa bucal destes pacientes através do Teste de Micronúcleo e correlacioná-las com o esquema terapêutico e tempo de uso do mesmo;

- Caracterizar a possível influência do infliximabe usado isodalmente ou em associação com azatioprina, mesalazina, sulfasalazina e prednisona no aumento da frequência de micronúcleos em células da mucosa bucal dos pacientes.

### 3 REFERENCIALTEÓRICO

#### 3.1 Doença de Crohn

A doença de Crohn (DC) é uma doença crônica de etiologia desconhecida que, juntamente com a retocolite ulcerativa (RCU), também conhecida como colite ulcerativa, é classificada na categoria de “doença inflamatória intestinal” (DII).O primeiro caso de DII publicado na literatura médica ocorreu em 1761, e foi descrito pelo italiano Giovanni Battista Morgagni (1682-1771), que relatou o caso de um paciente 20 anos, do sexo masculino, com “enterocolitegranulomatosa” fatal (DICKINSON; GODDEN, 1964; KIRSNER, 1995; POLI, 2007; NUNES, 2009). Desde então, foram numerosas as publicações relatando casos de doença inflamatória idiopática.

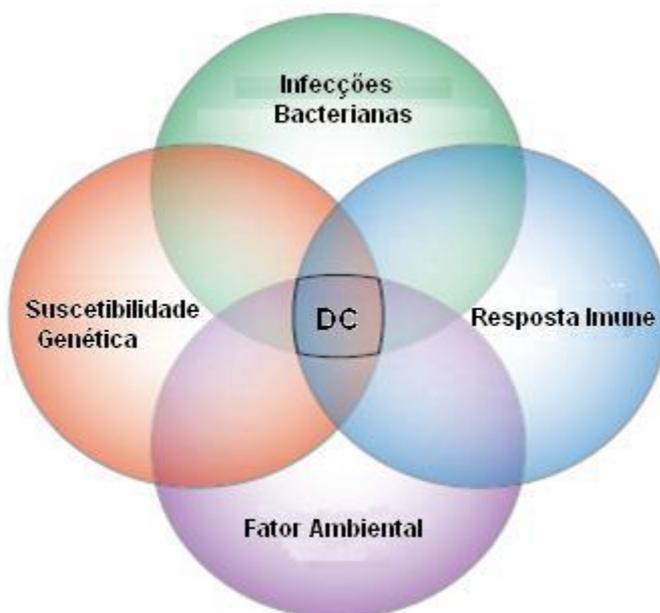
Em 1932, Burrill Bernard Crohn, Leon Ginzburg e Gordon Oppenheimer descreveram a Ileíte terminal. Nesta publicação os detalhes clínicos e patológicos da doença inflamatória foram observados. Estas afetam principalmente os jovens adultos e se manifestam por uma inflamação crônica ou subaguda, necrotizante e cicatrizante, com ulcerações, fístulas e estenoses (KOTZE; KOTZE; KOTZE, 2011).

Erick Brooke, em 1954, considerou que os aspectos patológicos da doença gastrointestinal descrita por Crohn seriam diferentes daqueles encontrados na RCU, separando claramente as duas doenças. Porém, essa teoria não foi aceita. Em 1959, o cirurgião H. E. Lockhart-Mummery destacou a importância de se conhecer os aspectos patológicos típicos da DC e da RCU separadamente. Este descreveu as alterações habituais nas várias fases das doenças, os aspectos histológicos da mucosa intestinal, formação de úlceras e pseudopólipos, entre outros, e defendeu que a Ileíte terminal / DC deveria ser claramente separada da RCU. A partir dessa data, com base no estudo macroscópico e microscópio detalhado, as duas doenças estavam definitivamente individualizadas e assumidas como patologias distintas (NUNES, 2009).

Embora a etiopatogeniaprecisa da DC seja desconhecida, vários fatores imunológicos, genéticos e ambientais que contribuem para a doença foram identificados. Atualmente, é referido um desequilíbrio entre a tolerância à microbiota comensal ou antígenos derivados de alimentos e respostas imunes à patógenos. Assim, a inflamação da mucosa observada na DC é desencadeada em indivíduos geneticamente predispostos pelas respostas imunes inata e adaptativa

desreguladas. Devido à sua crescente incidência em países industrializados, fatores ambientais como a dieta ocidental, pode contribuir para o desenvolvimento da doença. Investigações de interações de micróbios oportunistas tem revelado uma correlação entre respostas a infecções por micobactérias e susceptibilidade do hospedeiro para DII. Auto-imunidade é considerada outro grande contribuinte para a patogênese de DII (KHOR et al., 2011).

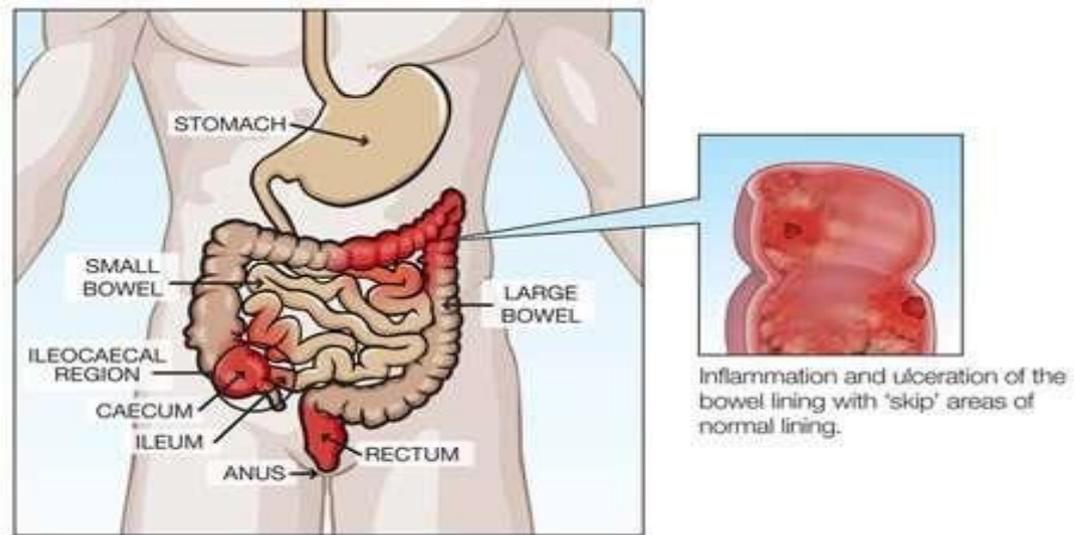
**Figura 1.** Interação entre os vários fatores responsáveis pelo desenvolvimento da DC



**Fonte:** Adaptado de Sartor, (2006)

É uma doença não curável por tratamento clínico ou cirúrgico e acomete o TGI de forma uni ou multifocal, de intensidade variável e transmural. Os locais de acometimento mais frequentes são o intestino delgado e o grosso (**Figura 2**). Manifestações perianais podem ocorrer em mais de 50% dos pacientes. A dilatação aguda e tóxica do cólon (megacólon tóxico) pode representar uma apresentação incomum, porém aguda e de elevada gravidade (HABR-GAMA *et al*, 2011). Manifestações extra-intestinais associadas ou isoladas podem ocorrer e atingem mais frequentemente pele, articulações, olhos, fígado e trato urinário (ARAÚJO *et al*, 2008).

**Figura 2.** Principais locais de acometimento da Doença de Crohn



**Fonte:** Adaptado de Kotzel et. Al.,2011

A DC atinge tanto homens quanto mulheres e pode ocorrer em qualquer idade, mas acomete principalmente indivíduos entre os 20 e 39 anos, tendo um segundo pico entre idosos de 60 a 80 anos. As manifestações clínicas se dão pela presença de diarreia (definida como diminuição da consistência das fezes por mais de 4 semanas) com presença de sangue, muco ou ambos, dor abdominal e perda de peso (HA, 2015). Além disso, vários estudos mostram que a DC atinge indivíduos em todo o mundo com uma prevalência maior em países industrializados, principalmente na Europa e América do Norte (MOLODECKY et al, 2012; PONDER, 2013; OOI et al, 2016).

A DC envolve ainda uma grande variedade de sintomas sistêmicos e extra-intestinais. Os sintomas mais relatados na doença inflamatória do intestino são cólica abdominal, diarreia (que pode ser sanguinolenta), vômitos, febre ou perda de peso. Esta também pode causar complicações fora do trato gastrointestinal, tais como erupções na pele, artrite e inflamação dos olhos (NUNES, 2009; RIBEIRO, 2009).

O quadro predominante na DC é a diarreia, que pode extrapolar mais de 10 vezes o habitual do ritmo intestinal, com descarga de material mucossanguinolento e piomucossanguinolento ou até mesmo uma expressiva enterorragia, sintoma frequente nas exacerbações da evolução, em até 80% dos pacientes, além de

urgência fecal e tenesmo. O acometimento pode se estender da 'boca ao ânus', em diferentes combinações de acometimento gastrointestinal e extra intestinal, apresentando focos de inflamação transmural, salteados por áreas de mucosa hígidas, cursando com edema das paredes, estreitamento luminal e granuloma não caseoso (TAYLOR et al., 2014).

Em relação à epidemiologia, dados de uma revisão sistemática, envolvendo a análise de 262 estudos (187 de prevalência e 96 de incidência, especificamente, da DC) cujo objetivo era avaliar incidência e prevalência de DC e RCU na Europa, Ásia, Oriente e América do Norte, apontou uma incidência da doença de 0,3 a 12,7 casos novos a cada 100.000 indivíduos na Europa (entre 1930 e 2008); 0,04 a 5,0, na Ásia e no Oriente (1950 e 2008); e 0 a 20,2, na América do Norte (1920 e 2004) (**Figura 3**). Quanto à prevalência, os dados mostraram 0,6 a 322 a cada 100.000 indivíduos na Europa; 0,88 a 67,9, na Ásia e no Oriente; e 16,7 a 318,5, na América do Norte. Essa revisão não evidenciou prevalência entre os gêneros, mas mostrou que a doença se manifesta, prevalentemente em indivíduos brancos e judeus, entre a segunda e a terceira décadas de vida, habitantes de zonas urbanas, de países industrializados (MOLODECKY et al., 2012)

Estudos mais recentes já apontam uma prevalência global de 5 a 50 casos por 1.000 habitantes, com predomínio de caucasianos. Uma estimativa da prevalência no município de São Paulo, Brasil, relatou a ocorrência de 14,8 casos por 100.000 habitantes (SANTOS, et al, 2017). Porém, no Brasil, pacientes com DC e UC não são necessariamente relatados, resultando em falta de dados epidemiológicos em relação a essas doenças. Essa situação coloca os pacientes em um estado vulnerável, pois estudos incipientes e os maus registros de publicações sobre esse grupo de doenças contribuem para o diagnóstico tardio e aumento da morbidade (ARANTES et al, 2017).

De acordo com a Pan American Crohn's and Colitis Organization - PANCCO, entre as barreiras encontradas está o diagnóstico tardio na maioria dos pacientes, sendo de 5 a 8 anos para doença de Crohn e de 3 a 5 anos para colite ulcerativa. Além disso, 85% dos pacientes visitaram pelo menos três especialistas para chegar ao diagnóstico correto. Entre as consequências clínicas do atraso no diagnóstico estão baixa qualidade de vida, maior número de recaídas e maior risco para câncer, infecção e anemia (REVISTA ABCD EM FOCO, 2017).

**Figura 3:** Distribuição da DC no mundo.



**Fonte:** Adaptado de Revista ABCD em FOCO – Revista da Associação Brasileira de Colite Ulcerativa e Doença de Crohn - Ed. 63/2017

A nível mundial, a doença inflamatória intestinal é distribuída de forma heterogênea. Tornou-se problema de saúde pública em algumas regiões da América do Norte e da Europa ocidental, enquanto na Ásia ainda possui um número incipiente de casos (LEDDIN, 2014). Dados revelam que indivíduos caucasianos, habitantes de áreas urbanas e industriais são mais acometidos por doenças de caráter autoimune, incluindo neste contexto pacientes com DII, porém podemos observar novos casos em áreas que antes possuíam baixa prevalência, concomitante ao processo de desenvolvimento e urbanização (VARGAS, 2010).

No Japão, estudos têm evidenciado o aumento na prevalência da DC nos últimos 20 anos, após alterações dos hábitos alimentares, como aumento do consumo de carne e gordura animal, produtos lácteos e redução no consumo de arroz (OOI et al., 2016)

O perfil da doença está relacionado a níveis elevados de interleucina-12 (IL-12), interferon $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , sendo o último o mais importante na terapêutica. A doença é caracterizada por duas fases, uma ativa e outra silenciosa. Na primeira, os portadores geralmente diminuem a quantidade de alimento ingerido pela presença dos sintomas como náuseas, cólicas e distensão abdominal, com possível aparecimento de fístulas, diarreia e fadiga. Já a segunda está relacionada ao portador com remissão da doença ou quando ela se encontra farmacologicamente

controlada. Esta fase é muito importante para o paciente, pois faz com que a tensão emocional seja diminuída (LEITE; MATHEUS, 2012). O fenótipo inflamatório em pacientes com DC pode levar a um fenótipo severo com estrangulamento ou mesmo manifestações da doença fistulizante. Dentro de 20 anos após o diagnóstico, metade de todos os pacientes tem desenvolvido estenoses e fístulas (LAASS et al., 2014).

DC é sobretudo um diagnóstico clínico baseado na história do paciente e exame do paciente apoiado por achados laboratoriais, sorológicos, radiológicos, endoscópicos e histológicos. Não existem marcadores patognomônicos para DC já que todos os resultados também podem ser vistos em outras doenças (LAASS et al., 2014). Existem alguns critérios, denominados de Lennard-Jones, que permitem definir a presença ou não de uma DII, incluem quatro grupos de dados: clínicos, radiológicos, endoscópicos e anatomopatológicos. É necessária, pelo menos a presença de dois critérios para o diagnóstico, sendo o anatomopatológico, o critério mais importante (BRADLEY; DEL VAL, 2012).

Após classificação e estabelecer a gravidade e atividade de doença da DC, deve-se definir a estratégia terapêutica, a qual se inicia com uma boa relação médico-paciente. Define-se a conduta correlacionando-se sintomas, achados endoscópicos e anatômicos, manifestações extraintestinais, eficácia da droga e seus principais efeitos adversos. A avaliação do prognóstico e a classificação do curso atual do DC também são importantes preditores para o manejo terapêutico adequado (DAMIÃO, 2014). O principal objetivo do tratamento da DC é o controle do processo inflamatório prevenindo complicações futuras e debilitantes (DAMIÃO, 2014).

### **3.2 Tratamento da Doença de Crohn**

O objetivo do tratamento na DC é conseguir a remissão e controle dos sintomas, prevenção e tratamento de complicações. Nesta patologia o tratamento não é muito específico, mas baseia-se, essencialmente, num tratamento médico, sendo a cirurgia reservada para complicações, com o intuito de melhorar a qualidade de vida do paciente. Contudo, o tratamento tem também uma componente não farmacológica muito importante que consiste em corrigir maus hábitos alimentares (FRANCES et al., 2010).

A tabela seguinte faz um resumo das classes de fármacos utilizados no tratamento da DC, bem como os seus principais mecanismos de ação, retratados posteriormente com maior pormenor.

**Tabela 1.** Tratamento convencional da DC e respetivos mecanismos de ação

<b>Classe de Fármacos</b>	<b>Mecanismo de ação</b>
<b>Aminossalicilatos</b>	Ação anti-inflamatória
<b>Corticosteroides</b>	Ação anti-inflamatória e imunossupressora
<b>AgentesImunomoduladores/ imunossupressores</b>	Supressão da resposta imune na DC
<b>Anticorposmonoclonais TNF-<math>\alpha</math></b>	Neutralização do TNF- $\alpha$ e apoptose
<b>Antibióticos</b>	Provocam dano celular na parede de patogénios e redução da carga bacteriana

**Fonte:** Adaptado de Head e Jurenka (2004).

### 3.2.1 Tratamento farmacológico

#### 3.2.1.1 Aminossalicilatos

Este grupo de fármacos é muito usado no tratamento da DC, leve a moderada, devido à sua capacidade de manter a remissão da doença. Contudo têm um papel mais limitado em casos de recidiva aguda. De uma forma geral, o mecanismo de ação é muito semelhante aos AINE's, ou seja, inibem as enzimas COX-1 e COX-2, inibindo assim a síntese de prostaglandinas inflamatórias. Inibem, também, a produção de citocinas, ao bloquear o recetorNF-kB, responsável pela transcrição genética nuclear de genes envolvidos na resposta inflamatória. Exemplos destes fármacos são a Sulfassalazina, Olsalazina, Mesalazina e Balsalazida (FRANCES et al., 2010; PAGE et al., 1999).

#### **Sulfassalazina**

A sulfassalazina é um fármaco que deriva da combinação de uma sulfonamida (sulfapiridina) com um salicilato (5-aminossalicilato). O seu mecanismo de ação é um pouco incerto, mas sabe-se que pode estar envolvido na redução da inflamação, por

remover os metabolitos tóxicos do oxigénio, inibindo a produção de prostaglandinas e leucotrienos e/ou por diminuir a quimiotaxia dos neutrófilos e posterior formação de superóxidos (RANG et al., 2008). Os efeitos adversos associados são a diarreia, hipersensibilidade aos salicilatos e nefrite intersticial. É degradada pela microbiota intestinal, principalmente no cego e cólon, no composto ativo 5-aminossalicilato (5-ASA) e sulfapiridina. A nível intestinal, o 5-ASA não é absorvido, sendo absorvida, só, a sulfapiridina, responsável pelo aparecimento de efeitos adversos, tais como náuseas, distúrbios gastrointestinais, mal-estar e cefaleias. Pode ainda provocar determinadas reações cutâneas e leucopenia, que são, contudo, reversíveis aquando a cessação da toma do fármaco. Afeta também a absorção de ácido fólico, ficando esta muitas vezes comprometida. O problema é contornado pela toma de suplementos de ácido fólico. Foi ainda relatado que este medicamento pode conduzir a uma diminuição de espermatozoides e consequente redução da fertilidade, para além de discrasias sanguíneas e reações anafiláticas em alguns pacientes. Assim, o tratamento com sulfassalazina é muito limitado (PAGE et al., 1999; RANG et al., 2008).

Dentro desta classe de medicamentos, existem compostos mais recentes que partilham um mecanismo de ação semelhante, são eles (PITHADIA; JAIN, 2011):

**Mesalazina** que consiste no 5-ASA, cuja ação é idêntica à da sulfassalazina, mas sem ação antibacteriana da sulfapiridina e com menos efeitos adversos devido a não possuir a sulfonamida;

**Olsalazina** que corresponde a 2 moléculas de 5-ASA ligadas por uma ponte diazo, hidrolisável por bactérias presentes no cólon; ação igual à da Mesalazina;

**Balsalazida**, não é mais que um ácido 4-aminossalicílico, um pró-fármaco de 5-ASA ligada ao veículo por uma ligação A20, quebrada pelas bactérias do cólon formando este composto.

Existem ainda aminossalicilatos de administração retal que correspondem à Mesalazina em forma de suspensão para enema de retenção ou em forma de supositório. O mecanismo de ação é igual ao das formas orais, acima descritas (FRANCES et al., 2010; RANG et al., 2008).

A nível comunitário, o farmacêutico deverá participar no aconselhamento ao doente, alertando-o para os possíveis efeitos adversos da medicação, nomeadamente, o possível aparecimento de rash cutâneo, aconselhando-o a beber

muita água ao longo do dia e ensinar o paciente a fazer tomas fracionadas do medicamento (FRANCES et al., 2010).

### **3.2.1.2 Corticosteróides**

Os corticosteróides ou glucocorticosteróides são potentes anti-inflamatórios e imunossupressores, principalmente porque restringem a proliferação clonal das células Th através da diminuição da transcrição do gene para IL2. São também responsáveis pela diminuição da transcrição de muitos outros genes de citocinas, como TNF- $\alpha$ , INF-  $\gamma$ , IL-10, interleucinas), tanto na fase de indução como na fase efetora da resposta imunológica (RANG et al, 2008).

São fármacos úteis nas crises agudas da DC, mas não são eficazes no tratamento de manutenção e nem no tratamento de fístulas. Não devem ser usados em tratamentos de longo prazo, devido aos seus efeitos adversos, nomeadamente, a supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e ao possível desenvolvimento de dependências aos esteróides. Uma das medidas para reduzir a supressão adrenal é conjugar o tratamento em dias alternados. A sua dose, como o que acontece com outros esteróides, deverá ser reduzida progressivamente ao longo de semanas a meses (desmame), com o objetivo de terminar o uso de corticosteróides, mantendo a remissão da doença (PITHADIA; JAIN, 2011; RANG et al., 2008).

A nível sistêmico tem um amplo perfil de efeitos secundários, nomeadamente, aparecimento de acne grave, mais comuns em doentes jovens, insuficiência adrenal, alterações visuais causadas por uma hiperglicemia que pode evoluir para diabetes, aparecimento precoce de cataratas, atrofia e fraqueza muscular (PITHADIA; JAIN, 2011). Em crianças, verificam-se efeitos inibitórios metabólicos e hormonais responsáveis pelo atraso no crescimento. Um efeito muito temido, por parte dos médicos é a osteoporose, em tratamentos de longo prazo, em doses elevadas de glucocorticóides. Isto acontece devido ao fato destes fármacos influenciarem a densidade óssea pela regulação do metabolismo de cálcio e fosfato e através dos efeitos na produção e degradação de colagénio. Os glucocorticóides reduzem a função dos osteoblastos (depositam a matriz óssea) e aumentam a atividade dos osteoclastos (digerem a matriz) levando à elevada fragilidade óssea e consequentes fraturas (RANG et al., 2008). O efeito na irrigação dos ossos pode conduzir à

necrose avascular com uma incidência sensivelmente de 4.3% (PITHADIA; JAIN, 2011).

Os corticoides devem, portanto, ser usados na indução da remissão da DC e não no tratamento de manutenção. Existem, vários tipos de resposta ao tratamento com corticoesteróides, pelo que os pacientes podem:

- Responder positivamente aos esteróides ( $\approx$  40% pacientes);
- Tornar-se córtico-dependentes (30-40% pacientes);
- Não responder aos esteróides (15-20%).

Assim, aqueles que respondem clinicamente aos esteróides melhoram significativamente e a dosagem aplicada é reduzida até ser cessada, mantendo a remissão da doença. Os que se tornam córtico-dependentes respondem à terapêutica, mas com a redução da dose rapidamente têm uma recaída no quadro clínico. Por fim, aqueles que não respondem aos esteróides, não melhoram o seu estado clínico, mesmo com doses elevadas e por longos períodos de tratamento, pelo que se deve levar à ponderação de terapias alternativas (PITHADIA; JAIN, 2011).

Os corticosteroides podem ser administrados por via oral (prednisona, prednisolona e budesonida), tópica retal (prednisona, budesonida, hidrocortisona e metilprednisona) e intravenosa (metilprednisona e hidrocortisona). Os fármacos de uso tópico retal estão indicados para tratamento da doença relacionada ao reto e colón descendente, e os de uso intravenoso estão indicados para tratamento de doença severa a grave (CARDOZO; SOBRADO,2015).

A nível comunitário, o farmacêutico pode referir ao doente que este deve estar atento ao aumento de peso, ao edema, ao aumento da pressão arterial e a possíveis alterações de humor. Não deve alterar a dose nem a posologia sem consentimento do médico e nunca suspender o tratamento abruptamente (FRANCES et al., 2010).

### **3.2.1.3 Imunomoduladores**

Os imunomoduladores são o pilar do tratamento a longo prazo da DC, sendo particularmente úteis em indivíduos refratários aos glucocorticosteróides ou glucocorticosteróides-dependentes (PAGE et al., 1999). Assim, foram desenvolvidos alguns compostos, nomeadamente dois análogos de purinas, a AZA (Azatioprina) e 6- MP (6-mercaptipurina). Estas duas moléculas foram introduzidas no mercado em

1950, originalmente destinadas para fins quimioterápicos, mas mais tarde, em 1960, começaram a ser usados para o tratamento de doenças auto-imunes, e só em 1980, em pacientes com DC. São fármacos usados na manutenção de recorrências clínicas e cirúrgicas e no tratamento de fístulas (ITAGAKI et al., 2012).

Outro imunomodulador mais recentemente estudado na DC é o metotrexato (MTX), que foi também desenvolvido inicialmente para tratamentos de quimioterapia e da artrite reumatoide, sendo que em 1980 provou ter também efeito em pacientes com DC, demonstrando eficácia no tratamento de agudizações e na manutenção dos pacientes que entram em remissão após o seu uso. Tem sido também usado no tratamento de fístulas (NIELSEN et al., 2013).

### **Azatioprina (AZA) e 6-Mercaptopurina (6-MP)**

A AZA é um composto que interfere com a síntese de purinas e é potencialmente citotóxica (RANG et al., 2008). É um pró-fármaco, cuja absorção é relativamente variável (biodisponibilidade oral de 16% a 50%) em indivíduos saudáveis, podendo ser, ainda, mais baixa devido a um tempo de trânsito intestinal mais reduzido nos episódios da doença. Ele é rapidamente clivado a 6-Mercaptopurina (6-MP) no fígado, através da enzima glutationa-S-transferase. No intestino, a 6-MP é, posteriormente, metabolizada por três enzimas: (1) tiopurina-S-metiltransferase (TPMT) que catalisa a metilação da 6-MP a 6-metil-MP (6-MMP); (2) xantina oxidase (XO) que catalisa a 6-MP a tiorato; (3) hipoxantina-guanina-fosforribosiltransferase (HGPRT), responsável pela conversão do 6-MP nos nucleótidos 6-tioguanina (6-TGN) (NIELSEN et al., 2013).

Comparando os dois fármacos, certos investigadores sugerem que a AZA é mais eficaz que a 6-MP. Contudo, na prática clínica são considerados igualmente eficazes, embora não tenha sido comprovado cientificamente. Atualmente, a AZA é o tratamento de primeira linha em pacientes com DC moderada a grave e só é substituída pela 6-MP se existirem efeitos secundários ou outras complicações (NIELSEN et al., 2013).

Os efeitos adversos que possam advir com o uso de AZA são os seguintes (NIELSEN et al., 2013; RANG et al., 2008):

- **Manifestações idiossincráticas**, como náuseas, vômitos e mal-estar. Geralmente, este tipo de manifestações ocorre, em pelo menos, 15% dos pacientes,

o que pode ser facilmente resolvido com um progressivo aumento da dose durante as primeiras semanas de tratamento. Outros efeitos colaterais são dores de cabeça, fadiga, anorexia, perda de peso, estomatite, alopecia, artralgia, fraqueza muscular e erupções cutâneas resolvidas com a descontinuação do fármaco ou redução de dosagem.

- **Mielotoxicidade**, que consiste na supressão da atividade metabólica da medula óssea que posteriormente pode resultar em trombocitopenias, reticulocitopenias, linfopenias e granulocitopenias, originando infecções fatais e anemias severas.

- **Complicações infecciosas** resultantes da imunossupressão, tais como pneumonias ou pneumonite intersticial, infecções por herpes, citomegalovírus, febre-Q ou listeria.

- **Pancreatites e hepatotoxicidade** (devido ao metabolito 6-MMP que é hepatotóxico).

## **Metotrexato (MTX)**

O metotrexato é um antagonista do ácido fólico atuando como inibidor da dihidrofolatoredutase, contribuindo para a redução dos precursores da síntese de purinas e, portanto, com atividade citotóxica e imunossupressora. É usado em pacientes com DC, nas formas moderada a grave, quando estes são intolerantes à AZA e 6-MP ou quando o tratamento falha com as tiopurinas (RANG et al., 2008).

Este composto só pode ser administrado por via IM ou SC, ao contrário da azatioprina que é administrada por via oral, e sofre uma metabolização hepática, onde, por ação da enzima aldeído oxidase, origina o principal metabolito, o 7-hidroxi-MTX. Este é um metabolito menos potente que o MTX, mas mais solúvel em água pelo que atinge concentrações superiores à do MTX. A nível intracelular, o MTX, é metabolizado a derivados de poliglutamatos, tornando a substância menos tóxica. Estes poliglutamatos permanecem nos tecidos durante um período de tempo mais alargado, permitindo que a administração seja feita apenas uma vez por semana. Cientistas acreditam que é esta conversão do MTX em poliglutamatos que torna o tratamento eficaz, constatando-se que estes metabolitos atuam ao fim de 6 semanas, após a sua administração, enquanto que o MTX só é eficaz ao fim de 2-3 meses, após início da terapêutica. Acreditam também, que estes poliglutamatos têm

certas ações antiinflamatórias (PAGE et al., 1999; NIELSEN et al., 2013; RANG et al., 2008).

### **Ciclosporina A – CyA**

A Ciclosporina A (CyA) é a alternativa de imunossupressão rápida para o controle das formas graves das doenças inflamatórias intestinais em pacientes hospitalizados e refratários a corticoterapia endovenosa. (CURY; MOSS, 2011).

A CyA atua principalmente por inibição da função de linfócitos T, que é essencial para a propagação da inflamação. A eficácia da CyA no tratamento da DC foi primeiramente mostrada em um estudo piloto randomizado não controlado. Posteriormente, um estudo controlado utilizando placebo com 20 pacientes, mostraram que 4 mg/kg de dose foram eficaz em casos refratários a corticosteroides. Este estudo foi interrompido precocemente devido a resultados além do esperado dos efeitos iniciais da CyA e, portanto, não fornece uma estimativa precisa para eficácia da droga (LEVESQ; WILLIAM, 2012).

#### **3.2.1.4 Antibióticos**

O envolvimento da microbiota intestinal na DC é um fator preponderante na clínica da doença. Certos cientistas apoiam que o desenvolvimento da inflamação intestinal crônica é causado por uma resposta imunológica anormal, em hospedeiros geneticamente suscetíveis. O envolvimento de bactérias na inflamação da DC proporcionou uma razão plausível para a introdução de antibióticos, no arsenal terapêutico desta patologia (SCRIBANO; PRANTERA, 2013).

Os antibióticos neste contexto podem ser usados como (PITHADIA; JAIN, 2011):

- Tratamento adjuvante, juntamente com outros fármacos;
- Tratamento para uma complicação específica na DC;
- Em profilaxia em situações de pós-operatório

Os antimicrobianos podem ser usados na DC nas formas mais graves da doença, não sendo úteis para tratamento de manutenção. Sua provável atuação estaria relacionada com a mudança da flora bacteriana do intestino, atualmente aceita para uma justificativa para os estímulos antigênicos contínuos, através de

produtos desses microrganismos que provocariam a resposta inflamatória enterocolônica. Os mecanismos de ação dos antibióticos na DII são: redução na concentração de bactérias luminais e aderidas à mucosa; eliminação seletiva de espécies bacterianas mais agressivas; e diminuição da translocação bacteriana e da invasão tecidual. Alguns antibióticos também apresentam um potencial de ação imunossupressora (CURY; MOSS, 2011; SIMIAN et al., 2013).

Os antibióticos mais estudados e utilizados na DC são o metronidazol e o ciprofloxacino. O metronidazol, um composto nitroimidazólico ativo contra bactérias anaeróbicas e alguns parasitas, e ciprofloxacino, particularmente ativo contra *E. Colie Enterobacteriaceae*, são mais usados na colite fulminante, de forma um tanto empírica, já que não há dados consistentes sobre sua eficácia (CARDOZO; SOBRADO, 2015).

### **3.2.1.5 Anticorpos monoclonais anti-TNF- $\alpha$**

O TNF-  $\alpha$  é um mensageiro químico (citocina) importante para várias vias pró-inflamatórias e proliferativas da DII, que está presente em concentrações elevadas no sangue, mucosa e fezes dos doentes. Ele é uma das principais citocinas encarregadas de mediar a resposta imune, característica da DC (LEITE; MATHEUS, 2012). O uso de agentes biológicos, nomeadamente de anticorpos anti-TNF, mudou radicalmente a terapêutica de manutenção da DII, especialmente na sua vertente de DC. A possibilidade da sua utilização nesta área surgiu quando modelos animais demonstraram que os anticorpos anti-TNF bloqueavam ou reduziam a produção de citocinas por parte das células T helper na resposta inflamatória; uma vez que estudos in vitro já haviam demonstrado que a produção de TNF está aumentada nos pacientes com DC (PANACCIONE; GHOSH, 2010).

Os fármacos incluídos neste grupo farmacológico muito provavelmente representam o grande avanço que houve no tratamento de inflamações crônicas graves nos últimos Doença de Crohn 68 anos. Estes são modificadores da resposta biológica, que interferem com a resposta inflamatória, atuando no fator de necrose tumoral, conhecido como TNF- $\alpha$ . Assim, os primeiros fármacos disponíveis para o tratamento da DC foram o Infliximab (IFX) e Adalimumab (PITHADIA E JAIN, 2011).

Atualmente, quatro drogas biológicas anti-TNF $\alpha$  foram aprovados para uso em DII: infliximabe, adalimumabe, certolizumabe e golimumab. O infliximabe é um

anticorpo monoclonal quimérico dirigido contra fator de necrose tumoral TNF- $\alpha$ , de 75% de origem humana e 25% de murino, cujo mecanismo de ação consiste em neutralização de TNF- $\alpha$  produzindo uma reação de citotoxicidade mediada por células e um aumento na morte celular ativado por linfócitos T8. Sua meia-vida é de 10 dias e a via de administração intravenosa (ROJAS, 2015). O problema destas terapêuticas é o seu elevado custo, por serem fruto de uma engenharia de DNA recombinante. Ambos são usados nas formas moderada a grave da DC (RANG et al., 2008).

O IFX é um anticorpo artificial originalmente desenvolvido em ratos, posteriormente humanizado em parte (denominado quimérico). Por ter sido desenvolvido a partir de uma única célula produzida por clones, o fármaco é, então, chamado de anticorpo monoclonal que compreende regiões constantes humanas e regiões variáveis murinas que reconhecem o fator de necrose tumoral com afinidade muito elevada, neutralizando a sua atividade biológica (LEITE; MATHEUS, 2012).

### **Infliximabe - IFX**

Dentro terapias biológicas, a primeira e mais comumente utilizado em DII é o infliximab, correspondente a um anticorpo monoclonal quimérico (75% do rato humano e 25%) da classe IgG1, que se liga especificamente a TNF $\alpha$ , ambos solúveis e ligadas membrana, com alta afinidade para formar complexos imunes estáveis. A ligação do infliximab ao TNF- $\alpha$  bloqueia a união entre ele e seus receptores, interrompendo o início do processo de sinalização intracelular que leva à transcrição genética e subsequente atividade biológica. Entre as atividades biológicas do TNF $\alpha$  são encontradas produção de citocinas, principalmente, IL-1 e IL-6, o aumento da migração de leucócitos, a expressão de moléculas de adesão de leucócitos e células endoteliais, a ativação de neutrófilos e eosinófilos, a síntese de prostaglandina e proliferação de fibroblastos, entre outros efeitos pró-inflamatórios; Quando o infliximabe se liga ao TNF $\alpha$ , esta cascata inflamatória é inibida (ROJAS et al., 2016).

O Infliximabe é capaz de se ligar ao receptor membrana do TNF- $\alpha$  e é essa interação que conduz à lise celular por mecanismos moleculares de reconhecimento anticorpo-antígeno ou por mecanismos de toxicidade mediada por células, como por exemplo células T, CD8+. O seu longo tempo de meia vida de 8 a 10 dias,

proporciona efeitos clínicos prolongados, o que se torna vantajoso em esquemas terapêuticos desta natureza (MOLNÁR et al., 2012; PITHADIA E JAIN, 2011; RANG et al., 2008).

A Terapêutica anti-TNF está associada a menor taxa de complicações da DC a curto e longo prazo, redução das taxas de hospitalização e cirurgia e melhora significativa da qualidade de vida. Por outro lado, alguns estudos têm demonstrado uma associação entre fatores biológicos e a terapia como alterações no perfil metabólico (por exemplo, hipertrigliceridemia, alteração na composição do LDL, aumento do HDL) e ganho de peso, principalmente à custa do aumento da gordura abdominal e visceral (SANTOS et al., 2017). O uso de IFX, como com qualquer outro fármaco, traz alguns efeitos adversos agudos, como por exemplo, febre, calafrios, urticária ou até mesmo anafilaxia, e outros subagudos, como é o caso da doença do soro, que podem ocorrer após a infusão do fármaco. Associado ao seu uso está também o aumento da incidência de infecções respiratórias, tais como a tuberculose (PITHADIA E JAIN, 2011).

Está totalmente contraindicado em pacientes que padeçam de insuficiência cardíaca congestiva grave. Existem preocupações com possíveis aumentos da incidência do linfoma não-Hodgkin, apesar de ainda não ter sido estabelecido nenhum papel causal direto. E ainda uma possibilidade de o infliximab reativar casos de tuberculose e, portanto, torna-se importante diagnosticar casos latentes antes de iniciar a terapêutica e que seja feita profilaxia para a tuberculose durante o tratamento (MOLNÁR et al., 2012).

### **Adalimumabe - ADA**

O adalimumabe é um agente anti-TNF muito semelhante ao infliximabe que também se liga ao TNF- $\alpha$  bloqueando a sua atividade e diminuindo a inflamação. Contudo, ao contrário do infliximab, este é um anticorpo anti-TNF completamente humanizado e é administrado por via SC e não por via IV, como é o caso do Infliximab (MOLNÁR et al., 2012). Em termos de eficácia e segurança, na indução e manutenção da remissão da doença, ele é muito semelhante ao infliximab, e é igualmente eficaz na cura de fístulas anais em pacientes com DC (PITHADIA; JAIN, 2011).

É um fármaco bem tolerado e alternativo quando a terapêutica com infliximab não é suportada pelo doente. Os efeitos secundários mais recorrentes são as reações cutâneas, junto ao local de administração, tais como inchaço, urticária ou eritema. Outros efeitos adversos são as infeções respiratórias, sinusite e náuseas. Casos de linfoma têm sido muito raramente associados ao uso de adalimumabe. Todos estes sintomas desaparecem com a cessação do tratamento (MOLNÁR et al., 2012; PITHADIA; JAIN, 2011).

O Adalimumabe demonstrou sustentar a manutenção da remissão clínica, melhorias a nível da qualidade de vida e redução da hospitalização (PANACCIONE et al., 2010).

A nível comunitário, o farmacêutico poderá sempre sensibilizar o paciente para estar atento a possíveis infeções, informando logo o médico, para ir vigiando a tensão arterial, e dirigir-se ao médico no caso de sentir algum destes sintomas: pruridos, fadiga, cefaleias e dispepsia (FRANCES et al., 2010).

A nível comunitário o farmacêutico pode dar a conhecer os possíveis efeitos secundários que possam advir do tratamento, já referidos acima, e desaconselhar na totalidade o consumo de álcool pois o seu uso concomitante com metronidazol provoca um efeito antabus (afrontamentos, vômitos e taquicardia) (FRANCES et al., 2010).

A Portaria nº 966, de 2 de outubro de 2014 aprovou o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da DC, considerando a necessidade de atualização de parâmetros sobre a DC no Brasil e de diretrizes nacionais para diagnóstico, tratamento e acompanhamento dos indivíduos com esta doença. PCDT é resultado de consenso técnico- científico e formulados dentro de rigorosos parâmetros de qualidade, precisão de indicação e posologia, considerando a avaliação da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS-CONITEC; do Departamento de Assistência Farmacêutica da Secretaria de Ciência e Tecnologia e Insumos Estratégicos-DAF/SCTIE/MS e da Assessoria Técnica da Secretaria de Atenção à Saúde – SAS/MS (BRASIL, 2017).

Este protocolo contém o conceito geral da DC, critérios de diagnóstico, critérios de inclusão e de exclusão, tratamento e mecanismos de regulação, controle e avaliação. É de carácter nacional e deve ser utilizado pelas Secretarias de Saúde dos Estados, Distrito Federal e Municípios na regulação do acesso assistencial, autorização, registro e ressarcimento dos procedimentos correspondentes. É

obrigatória a cientificação do paciente, ou do seu responsável legal, dos potenciais riscos e efeitos colaterais relacionados ao uso de medicamento preconizado para o tratamento da DC. O Termo de Esclarecimento e Responsabilidade (TER) é obrigatório ao se prescrever medicamento do Componente Especializado da Assistência Farmacêutica. Os gestores estaduais e municipais do SUS, conforme a sua competência e pactuações, deverão estruturar a rede assistencial, definir os serviços referenciais e estabelecer os fluxos para o atendimento dos indivíduos com a doença (BRASIL, 2017).

Segundo o PCDT, O tratamento da DC é complexo, exigindo habilidades clínicas e cirúrgicas em algumas situações. O tratamento clínico é feito com aminossalicilatos, corticosteroides, antibióticos e imunossupressores e objetiva indução da remissão clínica, melhora da qualidade de vida e, após manutenção da remissão. O tratamento cirúrgico é necessário para tratar obstruções, complicações supurativas e doença refratária ao tratamento medicamentoso. O tratamento da DC é definido segundo a localização da doença, o grau de atividade e as complicações. Os tratamentos foram esquematizados para tratamento da DC com atividade inflamatória intestinal leve a moderada, moderada a grave, grave a fulminante, remissão após tratamento de indução, remissão após tratamento cirúrgico e tratamento da DC complicada por fístulas, sendo para cada situação, preconizado um esquema farmacoterapêutico com drogas e posologias específicas (BRASIL, 2017).

O PCDT elencou os seguintes fármacos para a terapia da Doença de Crohn no Brasil:

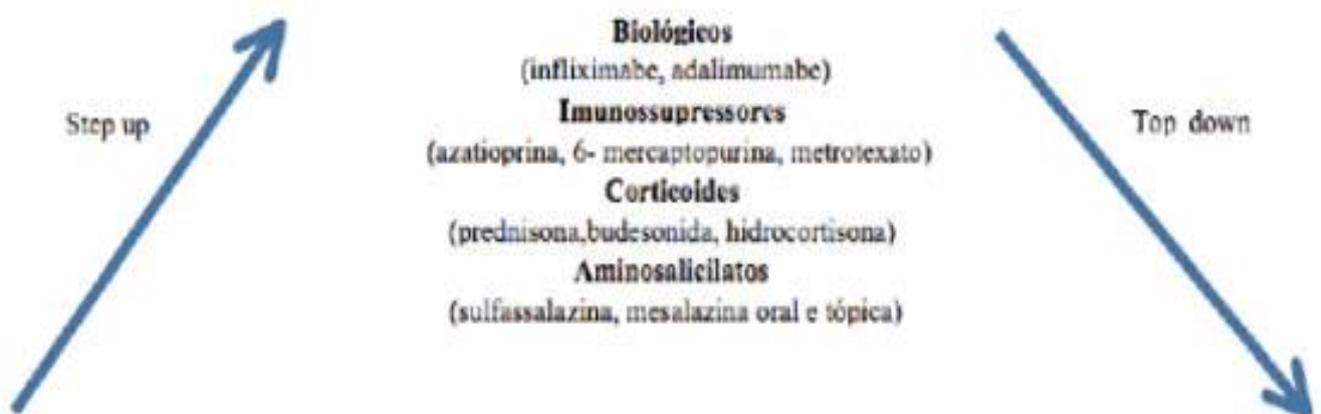
- Sulfassalazina: comprimido de 500 mg.
- Mesalazina: comprimido de 400, 500 e 800 mg.
- Hidrocortisona: solução injetável de 100 e 500 mg.
- Prednisona: comprimido de 5 e 20 mg.
- Metilprednisolona: solução injetável 500 mg.
- Metronidazol: comprimido de 250 e 400 mg.
- Ciprofloxacino: comprimido de 500 mg.
- Azatioprina: comprimido de 50 mg.
- Metotrexato: solução injetável de 50 mg.
- Ciclosporina: ampola de 50 mg/ml.
- Infliximabe: frasco-ampola com 100 mg.

- Adalimumabe: seringas pré-preenchidas com 40 mg.
- Certolizumabe pegol: seringa pré-preenchidas com 200mg.

### 3.3 Tratamento de indução e Remissão

A conduta mais empregada na prática clínica para o tratamento da DC é o “stepup” com adição progressiva de medicações mais potentes e com maior possibilidade de efeitos colaterais conforme a não resposta ao tratamento máximo do degrau anterior (**Figura 4**). Outra conduta cada vez mais utilizada na DC é a “top down”, com utilização de terapia biológica desde o início do tratamento, podendo mudar a história natural da doença (Revista HUPE, 2015).

**Figura 4.** Estratégia de tratamento na DC.



**Fonte:** Adaptado de Revista HUPE UERJ, Vol. 11 Nº 4

### 3.4 Genotoxicidade

#### 3.4.1 Genotoxicidade Humana

A genotoxicidade, também chamada de genética toxicológica, tem por objetivo identificar e estudar os efeitos de agentes físicos, químicos ou bioquímicos capazes de produzirem efeitos deletérios sobre o organismo, com especificidade para os ácidos nucleicos, especialmente o DNA. O termo genotóxico se refere às alterações letais e/ou hereditárias, que são transmitidas tanto pelas células somáticas, como pelas germinativas (SILVA et. al., 2003).

O nosso DNA é constantemente exposto a uma variedade de substâncias

genotóxicas, tanto por fontes endógenas, a exemplo de subprodutos metabólicos do organismo, tanto como fontes exógenas, a exemplo da radiação ultravioleta (UV) e substâncias químicas (ERMOLAEVA; SCHUMACHER, 2014).

A descoberta do DNA como material genético feito por Avery, McLeod e McCarthy e a descrição de sua estrutura feita por Watson e Crick acabaram por indicar que o DNA era o principal alvo celular dos agentes carcinógenos químicos e que as mutações são fundamentais para o entendimento acerca dos mecanismos do surgimento do câncer (LOEB; HARRIS, 2008).

Os carcinógenos químicos são capazes de interagir e causar alterações genéticas no DNA de células susceptíveis, o que pode causar um crescimento celular seletivo, conseqüente expansão clonal tornando-as geneticamente instáveis e, por fim, o surgimento de células neoplásicas (LOEB; HARRIS, 2008).

A primeira fase da carcinogênese (por conseqüência dos efeitos dos agentes mutagênicos), a iniciação do tumor, inicia-se pela exposição de células normais a agentes cancerígenos químicos ou físicos, gerando células que possuem uma resposta alterada ao seu microambiente e uma vantagem proliferativa em relação às células normais. Ao final de vários estágios (Figura 5), obtemos a manifestação do câncer (LOEB; HARRIS, 2008).

**Figura 5.** Representação esquemática dos estágios da carcinogênese



Fonte: INCA, 2002

### 3.4.2 Genotoxicidade de Fármacos

A avaliação genotoxicológica de produtos medicinais é de extrema importância para a qualificação e melhora de impurezas químicas. Agências reguladoras já

recomendam testes de genotoxicidade para aprovação de comercialização dos medicamentos antes de sua aplicação. A valiação do potencial genotóxico é especialmente importante para produtos farmacêuticos onde o uso clínico seja por um longo período de tempo (LIU et al., 2012)

Desde a década de 50, a regulamentação na área toxicológica obteve grandes avanços devido às tragédias observadas ao longo do tempo e ao impulso tecnológico. O incidente trágico que ocorreu com a talidomida, no qual milhares de crianças nasceram com malformações severas, despoletou o espírito crítico dos toxicologistas e alertou-os para a necessidade do desenvolvimento de estudos que certifiquem a segurança dos fármacos durante o desenvolvimento embrionário, conduzindo assim à implementação de nova legislação que determina as normas orientadoras dos ensaios de toxicidade na função reprodutora. Também o aparecimento de métodos analíticos com elevado grau de sensibilidade e especificidade possibilitou a detecção das substâncias tóxicas e respectivos metabolitos em níveis muito baixos nos tecidos e fluídos biológicos (GALLO, 2001; PATEL e MILLER, 2012).

Os estudos pré-clínicos são realizados para avaliar potenciais efeitos adversos e riscos para o ser humano, podendo ser agrupados em três categorias: os farmacológicos, os farmacocinéticos e os toxicológicos. Para que esta bateria de ensaios seja realizada seguem-se as normas orientadoras adotadas pelo Comité de Medicamentos para Uso Humano (CHMP) (*Non-clinical guidelines*) e pela Conferência Internacional de Harmonização dos Medicamentos de Uso Humano (*ICH: Safety*) que podem ser consultadas no *site* da Agência Europeia de Medicamentos (EMA, 2013).

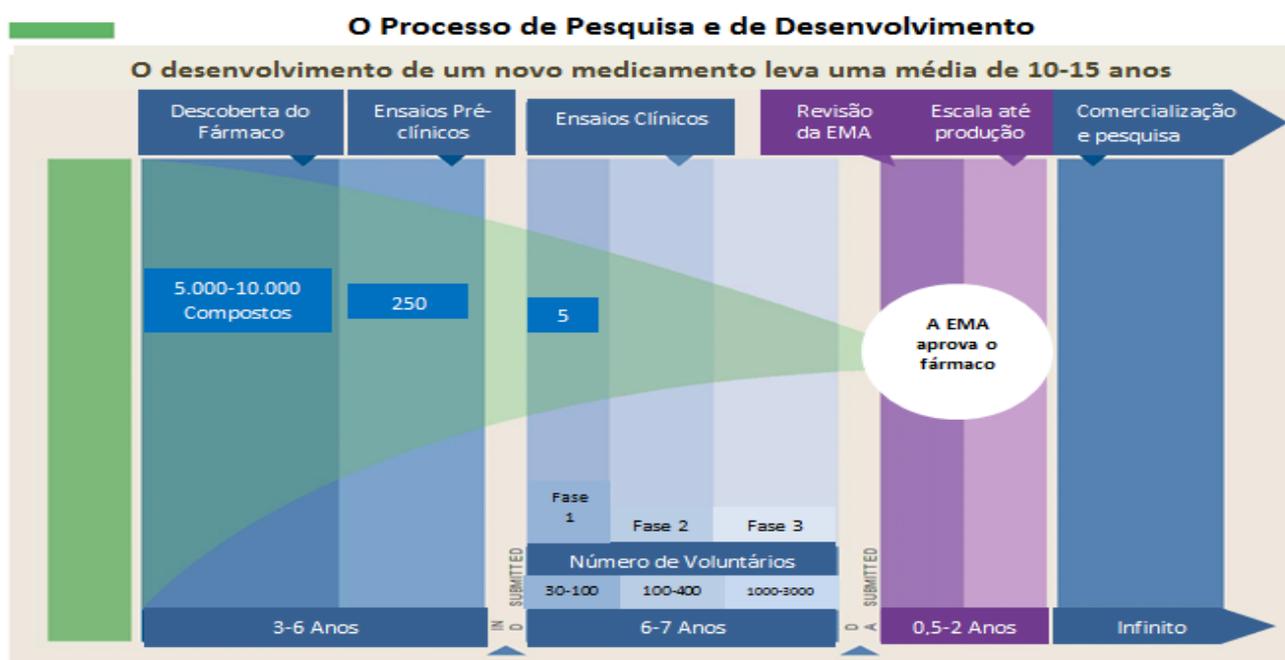
Segundo o departamento de saúde e serviços humanos de alimentação e administração de drogas dos Estados Unidos (FDA), Produtos farmacêuticos cuja expectativa de uso clínico seja contínua por pelo menos seis meses, devem ser submetidos obrigatoriamente a testes de genotoxicidade, bem como para produtos farmacêuticos utilizados frequentemente de forma intermitente no tratamento para condições crônicas (BRAMBILLA et al., 2013).

O ponto de partida para o desenvolvimento de um potencial fármaco (**Figura 3**) seguem critérios específicos que diferem conforme a região. Existem três regiões: a americana cuja entidade reguladora é a *Food and Drug Administration* (FDA), a europeia cuja entidade reguladora é a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e

a asiática cuja entidade reguladora é a Agência Japonesa de Medicamentos e Dispositivos Médicos (PMDA) (DENNY e STEWART, 2013).

Antes de surgir a Conferência Internacional de Harmonização dos Medicamentos de Uso Humano (ICH), no início da década de 90, os estudos toxicológicos pré-clínicos seguiam as normas de cada região de acordo com as “Boas Práticas de Laboratório(GLP)” fazendo com que a comercialização de um novo fármaco fosse um processo demasiado moroso (DENNY; STEWART, 2013).

**Figura 6.** Esquema representativo do processo de pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos



Fonte: <https://www.icontrolmyhealth.org/treatment-options/pharmaceuticals>

Em 2009, as diferentes regiões envolvidas no desenvolvimento de novos fármacos tornaram os testes toxicológicos pré-clínicos harmonizados através da criação de um compêndio designado de “Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals M3(R2)” que reúne as normas orientadoras e serve de ferramenta para definir os ensaios toxicológicos pré-clínicos através da ICH, reduzindo assim as diferenças entre as regiões, embora as normas para o registo e aprovação de um novo produto farmacêutico difiram de país para país uma vez que ficam a cargo do patrocinador responsável pela introdução no mercado do novo fármaco (DENNY e STEWART,

2013; ICH, 2009).

Os ensaios toxicológicos pré-clínicos incluem estudos para avaliação de toxicidade geral (por dose única e repetida), genotoxicidade, carcinogenicidade, imunotoxicidade e toxicidade sobre a função reprodutora. Além destes, podem ser efetuados ensaios toxicológicos complementares, tais como os ensaios de tolerância local, sempre que a via de administração e/ou efeito produzido pelo novo fármaco o exija. Este conjunto de ensaios tem como objectivo subjacente avaliar a segurança através da caracterização dos efeitos tóxicos nos órgãos-alvo, da relação dose-resposta e, quando adequado, da reversibilidade de determinado efeito (NUGENT, DUCANE COLAGIOVANNI, 2013).

A informação recolhida durante a realização destes ensaios serve para averiguar a dose inicial a administrar, o intervalo terapêutico a utilizar durante os ensaios clínicos e os potenciais efeitos adversos que poderão ocorrer, visto que cada ensaio apesar de estar confinado a determinados parâmetros encontra-se rigorosamente delineado para caracterizar os potenciais efeitos adversos que possam surgir nos ensaios clínicos (NUGENT, DUCANE COLAGIOVANNI, 2013).

### 3.4.3 Ensaio de genotoxicidade

Os ensaios de genotoxicidade conferem informação sobre a capacidade do novo fármaco induzir mutações no ácido desoxirribonucleico (DNA) levando a alterações nos cromossomas. Porém, a capacidade de um composto desencadear danos nos genes nem sempre é evidente porque o cancro envolve um processo complexo que se expressa passados anos, sendo necessários estudos de carcinogenicidade que são de longa duração e dispendiosos (KIRKLAND et al., 2011; NICOLETTE, 2013).

Contudo, sabe-se que todos os processos de carcinogenicidade afetam diretamente o DNA conduzindo a mutações que vão progredindo ao longo do tempo e manifestam-se sobre a forma de tumores. Alterações na estrutura do DNA são detetáveis por ensaios de genotoxicidade e mediante os resultados é possível prever se o novo fármaco numa etapa inicial do seu desenvolvimento poderá levar no futuro ao aparecimento de tumores (FRIEDRICHI e OLENJNICZAK, 2011; VANPARYS et al., 2012).

Os testes de genotoxicidade *in vitro* e *in vivo* são ensaios de curta duração,

acessíveis do ponto de vista económico e constituem uma forma eficaz de determinar se o novo composto tem capacidade para interagir com o DNA, causar mutações, provocar danos nos cromossomas ou afetar a capacidade de reparação do DNA, conferindo assim todos os indicadores de carcinogenicidade (SAWANT, FIELDEN e BLACK, 2014).

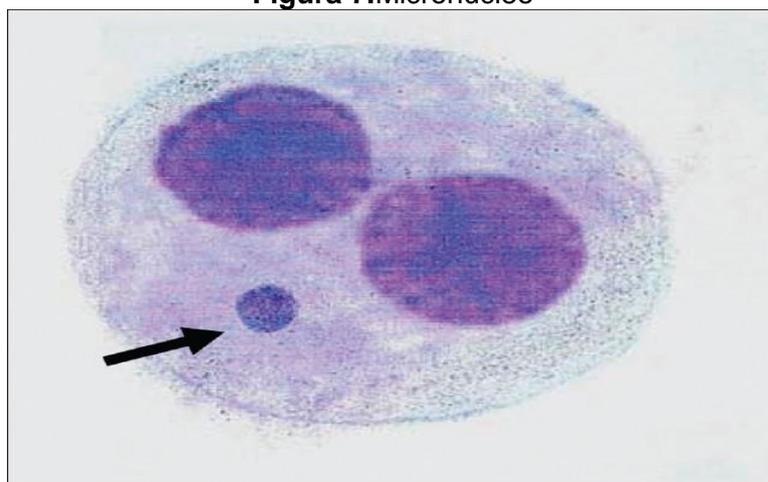
A simplicidade deste ensaio proporciona o desenvolvimento de várias versões de testes *in vitro* e *in vivo* para a deteção do potencial genotóxico do novo fármaco, ajudando desta forma as indústrias farmacêuticas a seleccionar o potencial candidato sem colocar em risco a vida do ser humano (McCANN e AMES, 1976; THYBAUD et al., 2011).

#### **3.4.3.1 Teste do Micronúcleo– MN**

O teste do Micronúcleo foi desenvolvido por Boller e Schmid, em 1970, e possibilita a realização de análises de danos causados por agentes físicos, químicos ou biológicos, capazes de interferir no processo de ligação do cromossomo às fibras do fuso, ou que possam introduzir a perda de material genético (cromossomos inteiros ou fragmentos), determinando alterações mutagênicas nos cromossomos e danos ao fuso mitótico, induzindo a formação de micronúcleos (SILVA et al., 2011).

O MN é um pequeno núcleo adicional composto por material cromossômico perdido pelo núcleo principal como consequência de um dano genético (**Figura 7**). Encontrados em grande quantidade em pacientes cancerígenos não tratados e em várias condições pré-neoplásicas, este ensaio pode ser utilizado como um biomarcador para identificar precocemente condições pré-neoplásicas muito antes das manifestações clínicas características do câncer (SWAPAN; PRANAB, 2010).

**Figura 7. Micronúcleo**



**Fonte:** Indian Journal of Patology and Microbiology

A frequência de MN nas células aumenta em tecidos expostos aos carcinogêneos, antes que qualquer sintoma clínico se manifeste. Portanto, o teste de MN é um biomarcador ocupacional em células expostas a agentes químicos genotóxicos, além de possível indicador de sinais carcinogênicos precoces (SINGARAJU et al., 2012).

A utilização da citologia esfoliativa a partir de raspado de mucosas é uma técnica barata e simples quando comparada a cultura de células, o que permite o estudo em âmbito populacional (MAJER et al., 2001; AYYAD et al., 2006).

Mais recentemente, Hollandet al. (2008) com vistas a estabelecer um protocolo de uso do Teste de Micronúcleo em células esfoliadas avaliaram 149 estudos oriundos de laboratórios distribuídos em várias partes do mundo. Os autores concluíram que micronúcleos são potencialmente excelentes marcadores biológicos de risco de câncer.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Tipo de estudo**

Tratou-se de um estudo experimental, descritivo e observacional. A pesquisa foi baseada na coleta de dados das fichas de acompanhamento farmacoterapêutico dos pacientes portadores de DC, e pela coleta de células esfoliativas da mucosa bucal dos pacientes destes pacientes, a fim de se identificar possíveis danos ao DNA e avaliar o potencial genotóxico do Infliximabe utilizado isoladamente ou em associação com Azatioprina, Mesalazina, Sulfasalazina e Prednisona, utilizados nos esquemas terapêuticos para o tratamento da DC. A pesquisa ocorreu entre fevereiro e abril de 2018.

### **4.2 Aspectos éticos**

O projeto referente a esta pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa com seres humanos do Hospital Universitário da Universidade Federal do Piauí (Parecer nº 67293517.0.0000.8050), mediante cadastro do projeto na plataforma Brasil (Anexo1) e pela Gerência de Ensino e Pesquisa do HU-UFPI, como também foram respeitados todos os direitos dos portadores de DC ao anonimato e à autonomia.

### **4.3 Local de estudo**

O estudo foi realizado junto à Unidade de Gastroenterologia do HU-UFPI – Campus Ministro Petrônio Portella, localizado na Avenida Universitária, sem número, bairro Ininga do município de Teresina, Piauí. Trata-se de um hospital geral com nível de atenção terciário e com esfera administrativa federal, administrado pela Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares – EBSERH, mantido pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Possui 195 leitos e atende todo o estado do Piauí e estados vizinhos.

O HU-UFPI conta com um serviço de acompanhamento clínico de pacientes portadores de DC, assistindo ambulatorialmente um número aproximado de 400 pacientes, dos quais, aproximadamente 100 pacientes fazem infusão de imunobiológico de forma regular. O serviço é acompanhado por uma equipe multiprofissional constituída de médicos, farmacêuticos, enfermeiros, nutricionistas, assistente social e educadores físicos. As amostras foram coletadas no período de

janeiro a maio de 2018, e foi constituída por portadores da DC que fazem uso de infliximabe isoladamente e/ou em associação com Azatioprina, mesalazina, sulfasalazina e prednisona e realizam a infusão no HU, independente do sexo e da faixa etária.

#### **4.4 Instrumentos**

Para concretizar e materializar a aceitação de participação na pesquisa os pacientes portadores de DC em acompanhamento farmacoterapêutico realizado no HU-UFPI assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE (Apêndice 1).

Para a coleta das informações sobre a caracterização epidemiológica da amostra, foi utilizado o formulário de acompanhamento farmacoterapêutico dos pacientes portadores de DC, que participam do projeto de acompanhamento farmacoterapêutico (ATENFAR DII), em que constam informações pertinentes sobre a história clínica, dados dos pacientes, hipótese diagnóstica, anamnese farmacológica, reações adversas ao tratamento farmacológico e outros dados de importância para o projeto (Apêndice 2).

As amostras de células esfoliativas da mucosa bucal foram coletadas com o uso da escova “cytobrush” (utilizada pela ginecologia para coleta de células cervicais). As células foram colocadas em tubos de Falcon contendo 5mL de solução salina (0,9% de NaCl) refrigerada, acondicionados em caixa térmica e imediatamente encaminhadas ao laboratório para preparação das lâminas.

#### **4.5 Critérios de inclusão**

Pacientes portadores de Doença de Crohn, que fazem uso de Infliximabe isoladamente e/ou tratamento convencional, de forma isolada ou em associação e que realizam infusão na Unidade do Aparelho Digestivo do HU-UFPI.

#### **4.6 Critérios de exclusão**

Pacientes que apresentaram diagnósticos inconclusivos ou que foram encontradas informações incompletas para esse estudo no Hospital Universitário.

## **4.7 Coleta das amostras**

O formulário de acompanhamento farmacoterapêutico e as coletas de amostra de mucosa bucal foram realizadas nos mesmos dias em que os pacientes realizaram a infusão do Infliximabe. Após leitura do TCLE, aplicação do questionário, esclarecimento de eventuais dúvidas e assinatura do mesmo pelos pacientes, procedeu-se a coleta de amostra de células esfoliativas da mucosa bucal. Para este procedimento usou-se escova do tipo “cytobrush” (mesma escova utilizada para coleta de células cervicais) para raspagem da mucosa oral, seguindo o protocolo de Kassiet al. (2001) e Casartelliet al. (2000). As células coletadas foram colocadas em um tubo de Falcon contendo 5mL de solução salina (0,9% de NaCl), acondicionadas em caixa térmica e imediatamente encaminhadas ao laboratório para preparação das lâminas, de acordo com Cerqueira et al. (2004).

## **4.8 Ensaio de genotoxicidade**

### **4.8.1 Teste do Micronúcleo**

Todos os testes foram realizados em parceria com o Laboratório de Pesquisa em Genética Toxicológica – LAPGENIC da Universidade Federal do Piauí. As amostras foram lavadas em 5mL de solução salina (0,9% de NaCl), com centrifugação por 10 minutos a 1.500 rpm, em seguida, retirou-se o sobrenadante da solução e resuspendeu-se o conteúdo novamente em 5mL de solução salina, segundo Thomas et al. (2008). Repetiu-se este procedimento por três vezes para diminuir a quantidade de bactérias que poderiam interferir na leitura das lâminas. Antes da preparação do esfregaço, as lâminas foram devidamente identificadas em sua borda fosca e pré-aquecidas a 37°. As células foram homogeneizadas e foi retirado 100µL da suspensão celular e colocado sobre a lâmina para realização do esfregaço e deixadas em temperatura ambiente para secar durante 15 minutos. A fixação foi feita com metanol:ácido acético (3:1) por 15 minutos, de acordo com Thomas et al. (2008). Foram preparadas três lâminas para cada paciente.

Após fixação as lâminas ficaram em temperatura ambiente durante 12 horas e, em seguida, foram imersas em água destilada durante 1 minuto antes da coloração em Giemsa a 2%, de acordo com Gabriel et al. (2006). Fez a lavagem das lâminas por duas vezes em água destilada durante 3 minutos e, por fim, secou-se

em temperatura ambiente. A observação das células será feita com o uso de microscópio óptico (OLYMPUS, CX, 41), no aumento de 1000 X, com uso de óleo de imersão. Cerca de 1000 células serão observadas em todas as lâminas, totalizando 3000 células para cada paciente, segundo Tolbert et al. (1991).

#### **4.9 Análise dos dados**

Os resultados do teste micronúcleo foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão da média. Os dados obtidos foram avaliados por meio da Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste Tukey como *post hoc test* pelo teste T de Student. Os dados foram analisados utilizando o software GraphPadPrism6.0 (San Diego, CA, EUA), os grupos experimentais foram comparados com o grupo controle e entre si. As correlações de *Pearson r* foram realizadas através do programa estatístico *IBM SPSS Statistics 23*. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas até  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização da Amostra

Esse perfil compreendeu as seguintes variáveis: gênero, faixa etária, estado civil, grau de instrução, ocupação, raça, naturalidade, e esquemas terapêuticos utilizados.

Do total de pacientes que realizam infusão no HU-UFPI, 40 pacientes concordaram em participar do presente estudo. Com relação ao gênero, 60% (25) eram do sexo masculino e 40% (15) do sexo feminino (**Tabela 2**). Barbosa(2016) já havia constatado em um estudo sobre farmacovigilância, que havia uma prevalência da DC para o sexo masculino, porém, em um grau mais acentuado (62,67%) neste mesmo centro de referência. No entanto, Sans(2006) informa que a DC afeta por igual ambos os sexos. Leite e Matheus (2012) relataram que a DC é mais frequente em mulheres. De acordo com estes estudos referidos, podemos perceber que na DC não há prevalência de gênero, podendo ocorrer diferentes resultados amostrais.

**Tabela 2.** Gênero dos participantes.

Gênero	n	%
Masculino	25	60,00
Feminino	15	40,00
Total	40	100

**Fonte:** Prontuários do Hospital Universitário, UFPI.

A faixa etária dos pacientes portadores de DC no momento do tratamento foi prevalente para adultos entre 31 a 59 anos (70%), seguido da faixa etária entre 20 a 30 anos (27%), seguida da de idosos (2,5%) conforme **Tabela 3**. Os dados encontrados divergem da literatura em geral, que relata ser uma doença de adultos jovens. Leite e Matheus (2012) diz que o maior número de casos surge tipicamente na segunda e terceira década de vida, ocorrendo outro pico entre os 60 e 80 anos. Barbosa (2016), relatou um equilíbrio entre adultos jovens de 20 a 30 anos (44,59%) e adultos mais velhos (40,54%), sendo a faixa etária de idosos a menos atingida (2,7%). Esta divergência se deve, certamente ao fato de as referências da literatura se referirem à faixa etária do surgimento da doença, enquanto o presente estudo levou em consideração a faixa etária atual dos pacientes em tratamento.

**Tabela 3.** Faixa etária

<b>Faixa etária</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
20 a 30	11	27,5
31 a 59	28	70
60 ou mais	1	2,5
Total	40	100

**Fonte:** Prontuários do Hospital Universitário, UFPI.

**Tabela 4.** Estado Civil

<b>Estado civil</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Solteiro	13	32,5
Casado	24	60
Separado	2	5
Total	40	100

**Fonte:** Prontuários do Hospital Universitário, UFPI.

A variável estado civil mostrou uma predominância de pessoas casadas (60%) seguido de solteiros (32,5%) e separados (5%) **Tabela 4**. O grau de instrução entre os portadores da DC estudados foi bastante estratificado conforme **Tabela 5**, mostrando uma certa prevalência para os portadores com ensino superior incompleto (22,5%). Com relação à raça mais encontrada entre os avaliados, a parda foi predominante (50%) como podemos observar na **Tabela 6**. Este fator se dá em virtude da nossa população ser muito miscigenada. A naturalidade dos portadores de DC se concentrou em pacientes de Teresina com 47,5% do total de participantes do estudo, seguidos de pacientes de municípios piauienses 40% conforme **Tabela 7**. Pacientes dos estados do Maranhão e Ceará somaram 12,5%, sendo estado maranhense o que apresentou o maior percentual (10%). Como já é de conhecimento, estados vizinhos, principalmente o Maranhão, utilizam de maneira significativa o Sistema de Saúde do Estado do Piauí.

**Tabela 5.** Grau de Instrução

<b>Grau de Instrução</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Analfabeto.	2	5
Ensino fundamental incompleto	2	5
Ensino fundamental completo	4	10
Ensino médio incompleto	7	17,5
Ensino médio completo	8	20
Ensino superior incompleto.	9	22,5
Ensino superior completo	8	20
Total	40	100

**Fonte:** Prontuários do Hospital Universitário, UFPI.

**Tabela 6.** Cor auto declarada

<b>Cor auto declarada</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Branca	10	25
Parda	20	50
Negra	7	17,5
Não declarada	3	7,5
Total	40	100

**Fonte:** Prontuários do Hospital Universitário, UFPI.

**Tabela 7.** Naturalidade

<b>Naturalidade</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Teresina	19	47,5
Outros municípios do Piauí	16	40
Maranhão	4	10
Ceará	1	2,5
Total	40	100

**Fonte:** Prontuários do Hospital Universitário, UFPI.

**Tabela 8.** Ocupações

<b>Ocupação</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Desempregado	7	17,5
Servidor público	6	15

Dona de casa	6	15
Estudante	3	7,5
Lavrador	2	5
Vendedor	2	5
Técnico eletrônico	1	2,5
Técnico agrícola	1	2,5
Bancário	1	2,5
Representante	1	2,5
Comerciante	1	2,5
Soldador	1	2,5
Músico	1	2,5
Outros	7	17,5
Total	40	100.00

**Fonte:** Prontuários do Hospital Universitário, UFPI.

A ocupação mais comum entre os avaliados foi a de desempregados(17,5%) de acordo com a **Tabela 8**. O percentual de servidores públicos (15%), donas de casa (15%), o de estudantes (7,5%) e o de outras profissões variadas (45%) revela que a DC pode atingir indivíduos de diversas categorias profissionais. Aparício (2013) relata que a evolução clínica da DC é caracterizada pela exacerbação e remissão dos sintomas e está associada a uma elevada taxa de morbidade, com 15% dos pacientes a serem considerados incapazes de trabalhar cerca de 5-10 anos após o diagnóstico. Os pacientes tendem a considerar o quadro clínico que lhes está associado como sendo embaraçoso e humilhante, o que pode resultar em perda de confiança e auto-estima e, em casos mais extremos, dificuldade em encontrar ou manter emprego.

**Tabela 9.** Fármacos e esquemas terapêuticos utilizados pelos portadores da DC em tratamento no HU- UFPI

Esquema terapêutico	n	%
IFX	13	32,5
IFX + AZA	14	35
IFX + AZA + MSZ + PDN	13	32,5
Total	40	100.00

**Fonte:** Prontuários do Hospital Universitário, UFPI.

Com relação aos fármacos e esquema terapêuticos (**Tabela 9**), os fármacos identificados no tratamento dos pacientes da amostra foram: IFX, AZA, MSZ, PDN. 100% dos pacientes da amostra fazem uso do imunobiológico Infiximab (IFX), isoladamente ou em associação com outros fármacos. Isso já era esperado pois um dos critérios de inclusão na pesquisa era de pacientes que fizessem uso de IFX e realizasse infusão no HU UFPI. O uso de agentes biológicos, nomeadamente de anticorpos anti-TNF, mudou radicalmente a terapêutica de manutenção da DII, especialmente na sua vertente de DC.

O IFX, o primeiro e o mais estudado de todos os anticorpos anti-TNF, é atualmente considerado como sendo especialmente benéfico nos pacientes com DC moderada e severa refratários ao tratamento convencional e portadores de fístulas. Devido ao risco de reações anafiláticas de infusão, a sua administração deve acontecer em ambiente controlado e com presença de resposta médica urgente caso seja necessário (HANAUER, 2007). Com relação às associações, o maior percentual foi para o esquema IFX + AZA (35%), seguido do IFX de forma isolada e associação IFX + AZA + MSZ ambas com 32,5 %. Estes dados condizem com a literatura.

Segundo o PCDT (BRASIL, 2017), AZA (2-2,5mg/kg/dia, em dose única diária) é eficaz em induzir a remissão da DC, principalmente após a 17ª semana de uso, sugerindo um período de latência no efeito. Esse fármaco também é útil para pacientes com recorrência dos sintomas, sendo eficaz tanto na indução da remissão como em sua manutenção. Com a introdução de agentes biológicos a AZA, como fármaco isolado, perdeu um pouco a sua expressão. Estudos recentes referem ser vantajosa a junção de IFX + AZA na terapêutica clínica, pois proporcionam maiores taxas de remissão da doença sem intervenção de esteróides e melhor cicatrização da mucosa, do que quando usados em monoterapia (ITAGAKI et al., 2012; SOUSA, 2014).

Os fármacos hidrocortisona, metilprednisolona, ciprofloxacino, ciclosporina, metotrexato, adalimumab e certulizumabe pertencentes ao PCDT, não apareceram, nem isoladamente nem em associação nos esquemas terapêuticos dos pacientes da amostra.

**Tabela 10.** Tempo em Tratamento com o esquema terapêutico

<b>Faixa de tempo</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
6 a 24 meses	14	35
25 a 60 meses	11	27,5
Mais de 61 meses	15	37,5
Total	40	100

**Fonte:** Prontuários do Hospital Universitário, UFPI.

Em relação ao tempo de tratamento, todos os pacientes fazem uso dos medicamentos, isolado ou em associações, há mais de 6 meses, sendo enquadrados então como usuários crônicos. Houve um equilíbrio entre o tempo de uso, sendo que o maior percentual foi o de pacientes que já fazem uso dos medicamentos a mais de 61 meses com 37,5% (**Tabela 10**).

**Tabela 11.** Consumo de bebida alcoólica

<b>Consumo de álcool</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Sim	5	12,5
Não	35	87,5
Total	40	100

**Fonte:** Prontuários do Hospital Universitário, UFPI.

**Tabela 12.** Consumo de verduras e frutas

<b>Consumo de Verduras e frutas</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Sim frequentemente	25	62,5
Ocasionalmente ou não consomem	15	37,5
Total	40	100

**Fonte:** Prontuários do Hospital Universitário, UFPI.

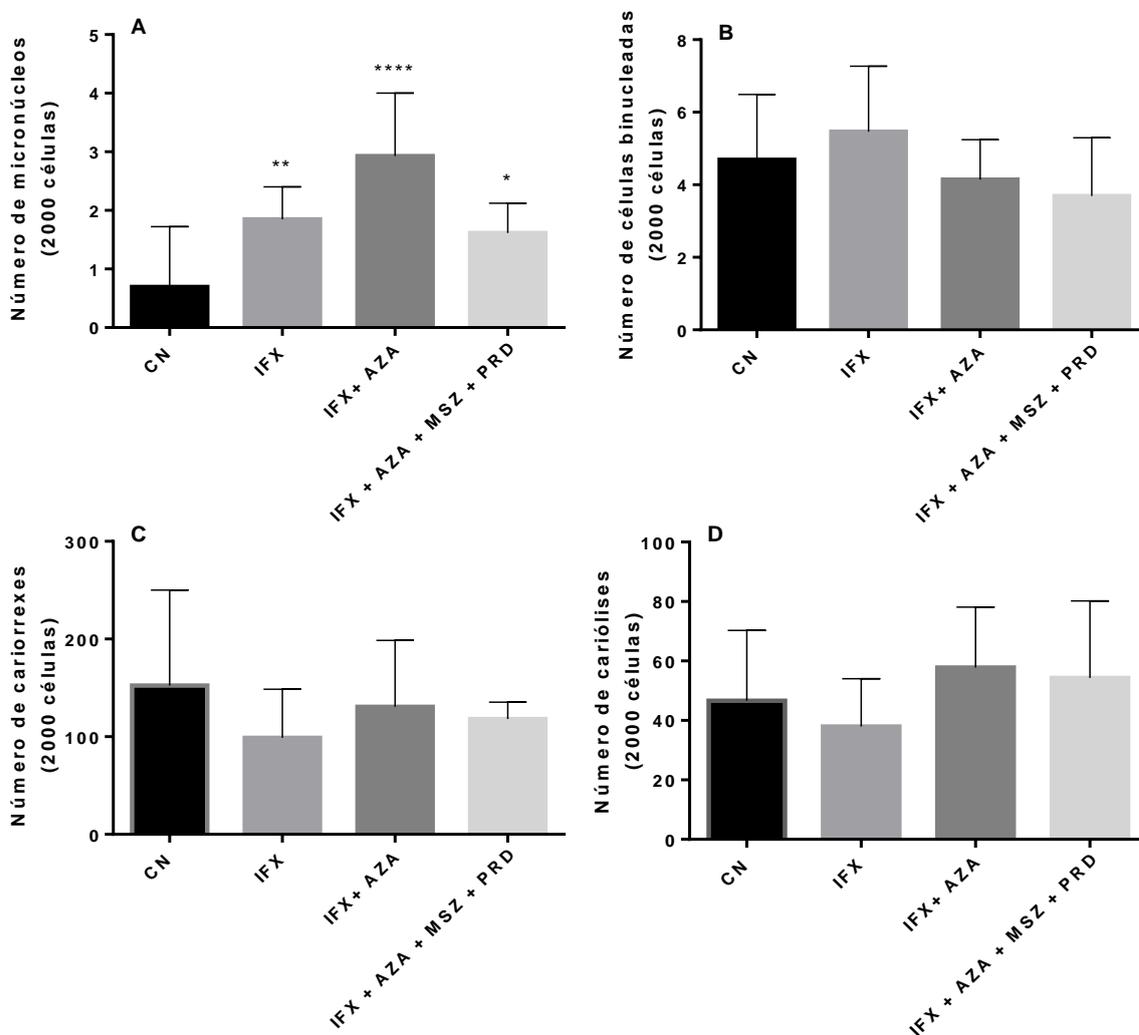
Quanto aos hábitos de vida dos usuários, 87,5% dos usuários relataram não fazer uso de bebidas alcoólicas (**Tabela 11**) e 62,5% relataram consumir com frequência frutas e verduras (**Tabela 12**). Todos os pacientes participantes deste estudo relataram ser não fumantes.

## 5.2 Análise de genotoxicidade

### 5.2.1 Teste do Micronúcleo

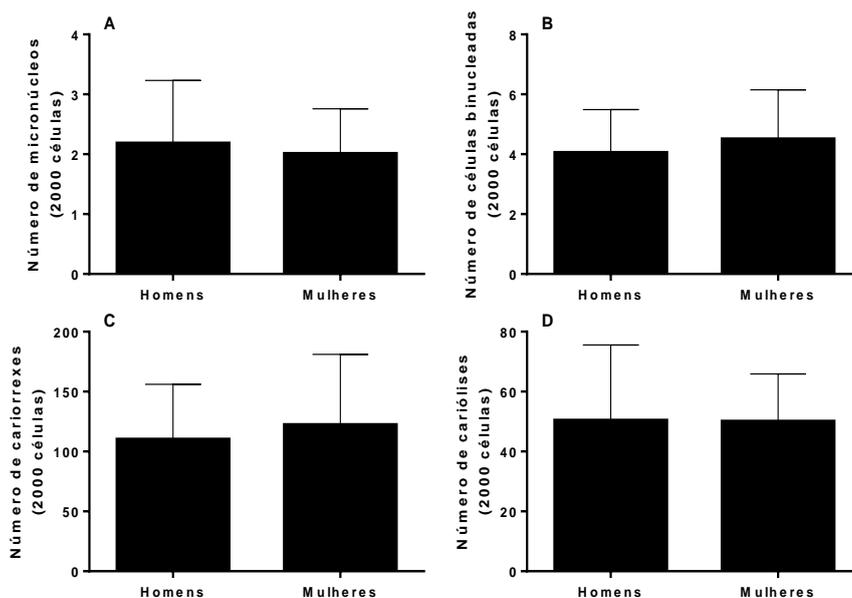
A avaliação toxicogenética é um campo relativamente novo, mas de grande importância para a análise e controle de compostos, como base para a identificação de alterações e ou danos do material genético (TORRES-BUGARÍN et al., 2014). O ensaio micronúcleo já tem sido empregado para o biomonitoramento de pacientes com DC (HOLLAND et al., 2008; HOLLAND et al., 2007). Os dados apontaram que o uso das terapias com IFX, IFX + AZA e IFX + AZA + MSZ + PDN induziram a formação de micronúcleos em relação ao grupo CN (**Figura 8 A**). No entanto não foi observado diferenças entre os demais marcadores do ensaio micronúcleo (**Figura 8 B. C. D**).

**Figura 8.** Avaliação de células de mucosa bucal pelo teste micronúcleo. CN: grupo controle negativo. IFX: infliximabe. AZA: azatioprina. MSZ: mesalazina. PDN: prednisona. MN: micronúcleo. BN: células binucleadas. CX: cariorrexe. CL: cariólise. Os valores representam a média  $\pm$  D.P.M. As diferenças entre os grupos (n=13-14) foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA one-way), seguido do teste de Tukey (post hoc teste) com \* $p > 0,05$ , \*\* $p > 0,01$  e \*\*\*\* $p > 0,0001$  comparado ao CN.



Quanto às possíveis diferenças estatísticas entre os sexos em relação aos marcadores do ensaio micronúcleo, os resultados não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ) (**Figura 9**).

**Figura 9.** Diferenças entre os gêneros masculino ( $n=35$ ) e feminino ( $n=15$ ) em relação micronúcleos (**A**), células binucleadas (**B**), cariorrexe (**C**) e cariólise (**D**). Os valores representam a média  $\pm$  D.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas pelo teste T de Student.



### 5.2.2 Possíveis correlações estatísticas entre os biomarcadores do ensaio micronúcleo e os parâmetros sócio culturais e de saúde em pacientes em terapias para DC.

Foram realizados através de análise estatística a correlação de *Pearson r* entre os marcadores do ensaio micronúcleo e os parâmetros sócio cultural dos pacientes (**Tabela 13**). Os resultados apontam correlação positiva no grupo IFX entre MN versus CX ( $0,326^{**}$ ;  $0,000$ ), MN versus CL ( $0,339^{**}$ ;  $0,000$ ), CX versus Tempo de tratamento ( $0,147^*$ ;  $0,014$ ), CL versus Tempo de tratamento ( $0,329^{**}$ ;  $0,000$ ), CL versus Faixa etária ( $0,449^{**}$ ;  $0,000$ ), Tempo de tratamento versus Faixa etária ( $0,407^{**}$ ;  $0,000$ ) e correlação negativa entre BN versus Tempo de tratamento ( $-0,222^{**}$ ;  $0,000$ ). Para o grupo IFX + AZA foram observadas correações positivas entre MN versus CL ( $0,403^{**}$ ;  $0,000$ ), MN versus Tempo de tratamento ( $0,128^*$ ;  $0,031$ ) e correlação negativa entre BN versus CX ( $-0,172^*$ ;  $0,004$ ) e BN versus Tempo de tratamento ( $-0,211^*$ ;  $0,000$ ). Já para o grupo IFX + AZA + MSZ + PDN foram observadas correlações positivas entre MN versus CL ( $0,159^*$ ;  $0,010$ ), MN

versus Tempo de tratamento (0,2400\*\*; 0,010), BN versus CX (0,355\*\*; 0,010), CL versus Faixa etária (0,481\*\*; 0,000) e Tempo de tratamento versus Faixa etária (0,338\*\*; 0,000).

O monitoramento toxicológico celular é importante para determinar a respostas às terapias atuais (ISHIKAWA; ISHII; SAITO, 2006). A integridade do genoma, proliferação e sobrevivência celular são reguladas por diversas vias, que incluem pontos de verificação de ciclo celular, reparo e recombinação de DNA e morte celular (ORTH et al., 2012). A instabilidade genômica contribui para o processo carcinogênico, através de erros na segregação cromossômica, translocações cromossômicas, aneuploidia, bem como lesões ao DNA e formação de mutações (YAO; DAI, 2014; ABBAS; KEATON; DUTTA, 2013).

Foi observado correlação positiva entre a formação de micronúcleos com o aumento da faixa etária, tempo de tratamento e a indução de fragmentação nuclear sugestiva de apoptose nos esquemas terapêuticos analisados. Lesões causadas ao DNA podem ter como consequência respostas celulares que resultam em apoptoses (SPIVAK et al., 2009) que podem ser avaliadas por diversos critérios morfológicos principais observadas no presente estudo, como o encolhimento celular, condensação e marginalização da cromatina nuclear, vacuolização citoplasmática e a fragmentação do DNA (KANDUC et al., 2002).

Na prática clínica, é utilizada uma variedade de monoterapias ou terapias combinadas em seqüência até que uma resposta clínica adequada seja alcançada, principalmente na tentativa de retardar a progressão da doença, a necessidade de um processo cirúrgico e alcançar remissão clínica e cicatrização da mucosa (BRADY et al., 2018). Existe preocupação com o risco de câncer, particularmente com relação ao risco de desenvolvimento de linfoma, associado ao uso de IFX (BIANCONE et al., 2007; MACKEY et al., 2007). Entretanto estudos clínicos descrevem que o IFX não aumentou o risco de desenvolvimento de câncer ao decorrer do tratamento (BIANCONE et al., 2011; BIANCONE et al., 2006).

Sabe-se que o IFX influencia na sinalização Akt impactando no checkpoint do ciclo celular e reduz a capacidade de reparo do DNA (FAURSCHOU; GNIADDECKI; WULF, 2008). No entanto no estudo clínico de Hommes et al. (2002) não foram observados efeitos mutagênicos nos pacientes tratados com IFX por 1 ano, bem como não houve correlação de aumento de malignidade em pacientes pediátricos com DC relatados por Hyams et al. (2017).

**Tabela 13** - Correlações de *Pearson r* significantes entre os biomarcadores do ensaio micronúcleo e parâmetros sócio culturais e de saúde em pacientes em terapias para DC.

<b>Grupos</b>		
<b>Correlações (Valor de <i>Pearson r</i> e de P)</b>		
<b>IFX</b>	<b>IFX + AZA</b>	<b>IFX + AZA + MSZ + PDN</b>
MN versus CX (0,326**; 0,000)	MN versus CL (0,403**; 0,000)	MN versus CL (0,159*; 0,010)
MN versus CL (0,339**; 0,000)	MN versus Tempo de tratamento (0,128*; 0,031)	MN versus Tempo de tratamento (0,2400**; 0,010)
MN versus Faixa etária (0,319**; 0,000)	BN versus CX (-0,172*; 0,004)	BN versus CX (0,355**; 0,010)
BN versus Tempo de tratamento (-0,222**; 0,000)	BN versus Tempo de tratamento (-0,211*; 0,000)	CL versus Faixa etária (0,481**; 0,000)
CX versus Tempo de tratamento (0,147*; 0,014)		Tempo de tratamento versus Faixa etária (0,338**; 0,000)
CL versus Tempo de tratamento (0,329**; 0,000)		
CL versus Faixa etária (0,449**; 0,000)		
Tempo de tratamento versus Faixa etária (0,407**; 0,000)		

DC: doença de Crohn. IFX: infliximabe. AZA: azatioprina. MSZ: mesalazina. PDN: prednisona. MN: micronúcleo. BN: células binucleadas. CX: cariorrexe. CL: cariólise. Os valores representam o valor de *Pearson r* e de significância para \* $p > 0,05$  e \*\* $p > 0,01$ .

Em modelos de genotoxicidade a azatioprina já demonstrou sua capacidade de se ligar ao DNA (ASHBY; TENNANT, 1991). Rosenkranz e Klopman (1991) descrevem que o átomo de enxofre em ponte na azatioprina é a causa provável de seu efeito carcinogênico, além disso o grupo nitro aromático desse composto é considerado provável agente mutagênico (ASHBY, 1992). A ação imunossupressora e citotóxica da azatioprina (GOLDSTEIN, 1987), pode levar a uma variedade de modificações do DNA, como dano à (FAIRCHILD; MAYBAUM; KENNEDY, 1986). Além disso Também é necessário como um sistema ativo de reparo de DNA incorreto, e embora os efeitos da privação de purina tenham sido sugeridos, o dano ao DNA parece ser o principal mecanismo para os efeitos citotóxicos das tiopurinas (KARRAN; ATTARD, 2008). Há relatos da indução da formação de micronúcleos em sangue periférico de ratos tratados com esse composto (HENDERSON et al., 1993), o que pode ser correlacionado com a maior nível de significância no número de micronúcleos no grupo de pacientes com tratamento de IFX em associação com AZA no presente estudo (**Figura 8**).

A mesalazina é utilizada rotineiramente por décadas em pacientes com doença de Crohn na prática clínica. No entanto recentemente, esse medicamento caiu em desuso devido a avaliações que não mostraram um benefício favorável o seu uso (MOJA et al., 2015; GEARRY et al., 2007). No entanto diversos autores descrevem a redução do risco no desenvolvimento de câncer de cólon em pacientes que fazem uso desse medicamento no seu espectro terapêutico (STOLFI; PALLONE; MONTELEONE, 2012; TANG et al., 2010; VELAYOS; TERDIMAN; WALSH, 2005), o que pode explicar o menor nível de significância no número de micronúcleos observados no esquema terapêutico com MSZ (**Figura 8**). Além disso, as diretrizes de prática clínica recomendam o uso de corticosteroides em pacientes com doença de Crohn leve a moderada, que minimiza a toxicidade tradicionalmente associada à prednisona. Brady et al. (2018) descreve o uso de múltiplas terapias farmacológicas para o tratamento da DC devido a heterogeneidade de respostas frente aos medicamentos. Portanto, estratégias de tratamento alternativas são necessárias em pacientes com doença de Crohn (COWARD et al., 2017).

## 6 CONCLUSÃO

O perfil de pacientes do presente estudo foi de indivíduos com prevalência do gênero masculino, cor autodeclarada parda, graus de escolaridades e ocupações variadas, a maioria com estado civil casado, oriundos em sua grande maioria de Teresina e cidades do interior do Piauí, tendo uma parcela significativa de usuários oriundos do estado do Maranhão. Os fármacos identificados para o tratamento da DC utilizados pelos pacientes em estudo foram IFX, AZA, MSZ e PDN, isoladamente ou em associações entre si. O maior percentual de associação foi para o esquema terapêutico IFX + AZA. Todos os esquemas terapêuticos demonstraram aumento no número de micronúcleos em relação ao grupo controle, mas não houve diferenças significativas entre sexos para os parâmetros analisados. Foram observadas correlações positivas entre os esquemas terapêuticos utilizados com formação de micronúcleos, indução de apoptose, faixa etária e tempo de tratamento dos pacientes analisados.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, T.; KEATON, M. A.; DUTTA, A. Genomic instability in cancer. Cold Spring Harbor perspectives in biology, p. a012914, 2013.

ARANTES, J. A. V.; SANTOS, C. H. M.; DELFINO, B. M.; SILVA, B. A.; SOUZA, R. M. M.; SOUZA, T. M. M.; FLÁVIO, I. D.; FERREIRA, C. G.; CRUZ, S. B. G.; Epidemiological profile and clinical characteristics of patients with intestinal inflammatory disease. **J. Coloproctol.** (Rio J.) vol.37 no.4 Rio de Janeiro Oct./Dec. 2017.

AROSA, F., A. E CARDOSO, E., M. (2007). Linfócitos T. In: AROSA, F., A., CARDOSO, E., M., E PACHECO, F., C. (Ed.). **Fundamentos de Imunologia.** Lisboa, Lidel, pp. 127-145.

ASHBY, J. Consideration of CASE predictions of genotoxic carcinogenesis for omeprazole, methapyrilene and azathioprine. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 272, n. 1, p. 1-7, 1992.

ASHBY, J.; TENNANT, R. W. Definitive relationships among chemical structure, carcinogenicity and mutagenicity for 301 chemicals tested by the US NTP. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 257, n. 3, p. 229-306, 1991.

BAPTISTA, M. L. **Associação de Polimorfismo dos genes CARD15 e IL23R com Doença de Crohn em uma População Brasileira.** Curitiba, 2008. 113 f. Dissertação de Doutorado de Medicina Interna, setor de Ciências da Saúde – Universidade Federal do Paraná.

BARBOSA, G. S. O; **Farmacovigilância na Doença de Crohn.** 2006. 100f. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2015.

BETTI C.; LOPRIENO, T. D. L. G.; BARALE R. Microgel electrophoresis assay (Comet test) and SCE analysis in human lymphocytes from 100 normal subjects. **Mutat.Res.** v. 307, p. 323-333, 1994.

BIANCONE, L.; CALABRESE, E.; PETRUZZIELLO, C.; PALLONE, F. Treatment with biologic therapies and the risk of cancer in patients with IBD. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 4, n. 2, p. 78, 2007.

BIANCONE, L.; ORLANDO, A.; KOHN, A.; COLOMBO, E.; SOSTEGNI, R.; ANGELUCCI, E.; MEUCCI, G. Infliximab and newly diagnosed neoplasia in Crohn's disease: a multicentre matched pair study. **Gut**, v. 55, n. 2, p. 228-233, 2006.

BIANCONE, L.; PETRUZZIELLO, C.; ORLANDO, A.; KOHN, A.; ARDIZZONE, S.; DAPERNO, M.; PAPI, C. Cancer in Crohn's Disease patients treated with infliximab: a long-term multicenter matched pair study. **Inflammatory bowel diseases**, v. 17, n. 3, p. 758-766, 2011.

BRADLEY, I. F.; DEL VAL, J. H. Definiciones, manifestaciones clínicas y diagnóstico de la enfermedad de Crohn. **Medicine**, v. 11, n. 5, p. 257-265, 2012.

BRADY, J. E.; STOTT-MILLER, M.; MU, G.; PERERA, S. Treatment Patterns and Sequencing in Patients With Inflammatory Bowel Disease. **Clinical Therapeutics**, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência a Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença de Crohn. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

CARDOZO, W. S.; SOBRADO, C. W. **Doenças Inflamatória Intestinal**. 2. Ed. Barueri, SP: Manole, 2015.

COWARD, S.; KUENZIG, M. E.; HAZLEWOOD, G.; CLEMENT, F.; MCBRIEN, K.; HOLMES, R.; KAPLAN, G. G. Comparative effectiveness of mesalamine, sulfasalazine, corticosteroids, and budesonide for the induction of remission in Crohn's disease: a Bayesian network meta-analysis. **Inflammatory bowel diseases**, v. 23, n. 3, p. 461-472, 2017.

CURY, DÍDIA BISMARA; MOSS, ALAN COLM. **Doenças inflamatórias intestinais: retocolite ulcerativa e doença de Chron**. Rio de Janeiro: Rubio, 2011.

DAMIÃO, A.; AZEVEDO, M.; CARLOS, A.; MILANI, L.; OBA, JANE. Doença inflamatória intestinal. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 71, n. 12, p. 46–58, dez. 2014.

DENNY, K.H., STEWART, C. W. (2013). **Acute, Sub-acute, Sub-Chronic and Chronic General Toxicity Testing for Preclinical Drug Development**. In Faqi, A, S.A Comprehensive E Guide To Toxicology In Preclinical Drug Development. 1ª Edição. Amesterdão. Editora Elsevier. pp. 87-104.

DICKINSON, G. T.; GODDEN, J. O. Idiopathic Inflammatory Disease of the Intestine. Canada. **Canadian Medical Association**, v. 91, n.1, p. 40-41, 1964.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY.(2013). Disponível em: «[http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general\\_content\\_000397.jsp&mid=WC0b01ac058002956f](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000397.jsp&mid=WC0b01ac058002956f)». [Consultado em: 30/11/2013].

FAIRCHILD, C. R.; MAYBAUM, J.; KENNEDY, K. A. Concurrent unilateral chromatid damage and DNA strand breakage in response to 6-thioguanine treatment. **Biochemical pharmacology**, v. 35, n. 20, p. 3533-3541, 1986.

FAURSCHOU, A.; GNIADCKI, R.; WULF, H. C. Infliximab inhibits DNA repair in ultraviolet B-irradiated premalignant keratinocytes. **Experimental dermatology**, v. 17, n. 11, p. 933-938, 2008.

FAUST, F.; KASSIE, F.; KNASMÜLLER, S.; BOEDECKER, RH. Mann M. Mersch-Sundermann V The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies. **Mutat Res**. 566:209-29, 2004.

FOWLER, J.; GALLI, G. L. EUROTOX's view regarding the ROLE and TRAINING of certified European registered toxicologists (ERT). **Toxicology Letters**, 168, pp.

194-195, 2007.

FRANCES, D., MONAHAN, F., SHARON, A., et al. (2010). Problemas do intestino. In: Monahan. F., D., Sands, J., K., Neighbors, M., et al. (Ed.). **Enfermagem Médico Cirúrgica. Perspectivas de Saúde e Doenças**. 8ª edição. Loures, Lusodidacta, Volume III, pp. 1284-1291.

GALLO, M.A. (2001). History and scope of toxicology. In **Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons**. 6ª Edição Nova Iorque. Editora McGraw-Hill. pp. 1-3., 2001.

GEARRY, R. B.; AJLOUNI, Y.; NANDURKAR, S.; ISER, J. H.; GIBSON, P. R. 5-Aminosalicylic acid (mesalazine) use in Crohn's disease: a survey of the opinions and practice of Australian gastroenterologists. **Inflammatory bowel diseases**, v. 13, n. 8, p. 1009-1015, 2007.

GOLDSTEIN, F. Immunosuppressant therapy of inflammatory bowel disease. Pharmacologic and clinical aspects. **Journal of clinical gastroenterology**, v. 9, n. 6, p. 654-658, 1987.

GONTIJO, A. M. M. C.; TICE, R. **Teste do cometa para a detecção de dano no DNA e reparo em células individualizadas**. In: RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. (Org.). **Mutagênese Ambiental**. Canoas: Ulbra. p.173-200, 2003.

HABR-GAMA, A.; CERSKI, C. T. S.; MOREIRA, J. P. T.; CASERTA, N. M. G.; OLIVEIRA Jr, O.; ARAÚJO, S. E. A.; Doença de Crohn intestinal: manejo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 57, n. 1, p. 10-13, 2011.

HANAUER, S. B. Clinical perspectives in Crohn's disease. Turning traditional treatment strategies on their heads: current evidence for "step-up" versus "top-down". **Gastroenterol Disord**, v. 2, n. 7, p. S17-S22, 2007.

HENDERSON, L.; FEDYK, J.; WINDEBANK, S.; SMITH, M. Induction of micronuclei in rat bone marrow and peripheral blood following acute and subchronic administration of azathioprine. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 291, n. 1, p. 79-85, 1993.

HOLLAND, N., BOLOGNESI, C., KIRSCH-VOLDERS, M., BONASSI, S., ZEIGER, E., KNASMUELLER, S., FENECH, M. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. **Mut Res**. v. 659, p. 93-108, 2008.

HOLLAND, N.; BOLOGNESI, C.; KIRSCH-VOLDERS, M.; BONASSI, S.; ZEIGER, E.; KNASMUELLER, S.; FENECH, M. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 659, n. 1, p. 93-108, 2008.

HOLLAND, N.; HARMATZ, P.; GOLDEN, D.; HUBBARD, A.; WU, Y. Y.; BAE, J.; HEYMAN, M. B. Cytogenetic damage in blood lymphocytes and exfoliated epithelial cells of children with inflammatory bowel disease. **Pediatric research**, v. 61, n. 2, p.

209, 2007.

HOMMES, D. W.; VAN DE HEISTEEG, B. H.; VAN DER SPEK, M.; BARTELSMAN, J. F.; VAN DEVENTER, S. J. Infliximab treatment for Crohn's disease: one-year experience in a Dutch academic hospital. **Inflammatory bowel diseases**, v. 8, n. 2, p. 81-86, 2002.

HYAMS, J. S.; DUBINSKY, M. C.; BALDASSANO, R. N.; COLLETTI, R. B.; CUCCHIARA, S.; ESCHER, J.; KOLETZKO, S. Infliximab is not associated with increased risk of malignancy or hemophagocytic lymphohistiocytosis in pediatric patients with inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 152, n. 8, p. 1901-1914. e3, 2017.

ISHIKAWA, K.; ISHII, H; SAITO, T. DNA damage-dependent cell cycle checkpoints and genomic stability. **DNA and cell biology**, v. 25, n. 7, p. 406-411, 2006.

ITAGAKI, M., SARUTA, M., LINUMA, T., et al. (2012). Infliximab and Immunosuppressant Resistant Crohn's Disease Successfully Treated with Adsorptive Granulocyte Apheresis Combined with Prednisolone. **Case Reports in Gastroenterology**, 6, pp.118-123.

KANDUC, D., MITTELMAN, A., SERPICO, R.; SINIGAGLIA, E.; SINHA, A. A.; NATALE, C.; SANTACROCE, R.; DI CORCIA, M. G.; LUCCHESI, A.; PANI, P.; SANTACROCE, S.; BUCCI, R.; FABER, E. Cell death: apoptosis versus necrosis. **International journal of oncology**, v. 21, n. 1, p. 165-170, 2002.

KARRAN, P.; ATTARD, N. Thiopurines in current medical practice: molecular mechanisms and contributions to therapy-related cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 8, n. 1, p. 24, 2008.

KASER, A.; ZEISSIG, S.; BLUMBERG, R. S. Inflammatory bowel disease. **Annual review of immunology**, v. 28, p. 573-621, jan. 2010.

KHOR, B.; GARDET, A.; XAVIER, R.J. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. **Nature**, n. 474, p. 17-307, 2011.

KIRKLAND, D. ET AL. (2011). A core in vitro genotoxicity battery comprising the Ames test plus the in vitro micronucleus test is sufficient to detect rodent carcinogens and in vivo genotoxins. **Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 721. pp.27-29.

KIRSNER JB. Historical Review: The Historical Basis of the Idiopathic Inflammatory Bowel Diseases. Chicago, USA. **Inflammatory Bowel Diseases**, v.1, n.1, p. 2-26, 1995.

KOTZE LMS; KOTZE PG; KOTZE LR. **Doença de Crohn**. In: DANI R; PASSOS MCF. *Gastroenterologia Essencial*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 347-379.

LAASS, et al. Diagnosis and classification of Crohn's disease. **Autoimmunity Reviews**, v. 13, p. 467-471, 2014.

LANGMAN, L.J.; KAPUR, B.M. Toxicology: Then and Now. **Clinical Biochemistry**, 39.pp. 498-510, 2006.

LEDDIN, D.; TAMIM, H.; LEVY, A. R. Decreasing incidence of inflammatory bowel disease in eastern Canada: a population database study. **BMC gastroenterology**, v. 14, n. 1, p. 140, jan. 2014.

LEITE, T. O. C.; MATHEUS, M. E. Infliximab para tratamento da Doença de Crohn: da descoberta aos tempos atuais. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 3, p. 298-303, 2012.

LOGAN, I.; BOWLUS, C. L. The geoepidemiology of autoimmune intestinal diseases. **Autoimmunity reviews**, v. 9, n. 5, p. A372–8, mar. 2010.

LOPES, A. C. **Diagnóstico e Tratamento**. São Paulo: Editora Manole, 2006

MACKAY, A. C.; GREEN, L.; LIANG, L. C.; DINNDORF, P.; AVIGAN, M. Hepatosplenic T cell lymphoma associated with infliximab use in young patients treated for inflammatory bowel disease. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 44, n. 2, p. 265-267, 2007.

MAGRO, F.; CORREIA, L.; LAGO, P.; MACEDO, G.; PEIXE, P.; PORTELA, F.; DIAS, J. A.; BARROS, L.; BELO, T.; CALDEIRA, P.; CERQUEIRA, R.; CHAGAS, C.; CORREIA, M.; FERREIRA, A.; FREIRE, P.; GONÇALVES, A. R.; GONÇALVES, R.; HERCULANO, R.; LOPES, S.; SANTOS, P.M.; MACHADO, A.; MORNA, H.; PIMENTEL, R.; RAMOS, J.; REIS, J.; RODRIGUES, S.; ROSA, I.; SALGADO, M.; VASCONCELOS, H.; VIEIRA, A. I. Decisões clínicas na doença de Crohn. **Jornal Português de Gastreenterologia**, v. 19, n. 2, p. 71-88, 2012.

MCCANN, J.; AMES, B.N. (1976). Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella / microsome test: assay of 300 chemicals. **Medical Sciences**.pp.950-953.

MOJA, L.; DANESE, S.; FIORINO, G.; DEL GIOVANE, C.; BONOVAS, S. Systematic review with network meta-analysis: comparative efficacy and safety of budesonide and mesalazine (mesalamine) for Crohn's disease. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 41, n. 11, p. 1055-1065, 2015.

MOLNÁR, T., FARKAS, K., NYÁRI, T., et al. (2012). Frequency and Predictors of loss of Response to Infliximab or Adalimumab in Crohn's Disease after One-Year Treatment Period – A Single Center Experience. **Journal of Gastrointestinal and Liver Disease**, 21(3), pp. 265-269.

MOURELLE J. A. F., et al. **Rev Cubana Salud Pública**. vol. 42 no.4 Ciudad de La Habana oct.-dic. 2016.

NICOLETTE, J. (2013). Genetic Toxicology Testing. In Faqi, A. S. **A Comprehensive E Guide To Toxicology In Preclinical Drug Development**. 1ª Edição, Editora Elsevir, pp. 141-162.

NIELSEN, O., H., BJERRUM, J., T., CSILLAG, C., et al. (2009). Influence of smoking

on colonic gene expression profile in Crohn's disease. PLoS One, 4(7), pp. e6210.

NUGENT, P., DUNCAN, J.N., COLAGIOVANNI, D. B. (2013). **The Preparation of a Preclinical Dossier to Support an Investigational New Drug (IND) Application and First-in-Human Clinical Trial.** In Faqi, A. S.A Comprehensive E Guide To Toxicology In Preclinical Drug Development. 1ª Edição, Editora Elsevir, pp. 318-333.

NUNES, PAULA MFBB. **Contribuição para o conhecimento da cancerigénese na Colite Ulcerosa de longa evolução** – Fenótipo aberrante de mucinas e mecanismos relacionada com a expressão. Lisboa, 2009. 164f. Dissertação de Doutorada de Medicina na especialidade de Anatomia Patológica – Universidade de Lisboa.

ORTH, J. D.; LOEWER, A.; LAHAV, G.; MITCHISON, T. J. Prolonged mitotic arrest triggers partial activation of apoptosis, resulting in DNA damage and p53 induction. **Molecular biology of the cell**, v. 23, n. 4, p. 567-576, 2012.

PAGE, C., P., CURTIS, M., L., SUITER, M., C., et al. (1999). **As drogas e o sistema gastrointestinal.** In: Page, C., P., Curtis, M., L., Suiter, M., C., et al. (Ed.). Farmacologia Integrada. São Paulo, Manole LTDA, pp. 314-315.

PANACCIONE, R.; GHOSH, S. Optimal Use of Biologics in the Management of Crohn's Disease. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, n. 3, p. 179-189, 2010.

PATEL, M.; MILLER, M. A. (2012). Impact of regulatory science on global public health. **Journal of Medical Sciences**, 28, pp. 5-9.

PITHADIA, A., B., E JAIN, S. (2011). Treatment of inflammatory bowel disease (IBD). **Pharmacological Reports**, 63, pp. 629-642.

POLI, D. D. **Impacto da raça e ancestralidade na apresentação e evolução da doença de Crohn no Brasil.** São Paulo, 2007. 51f. Dissertação de Mestrado de Medicina, Gastroenterologia Clínica – Universidade de São Paulo.

PRANTERA, C.; E MARCONI, S. (2013) Glucocorticosteroids in the treatment of inflammatory bowel disease and approaches to minimizing systemic activity. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, 6(2), pp. 137-156.

RANG. H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M., et al. (2008). **Trato gastrointestinal.** In: Rang. H., P., Dale, M., M., Ritter, J., M., et al. (Ed.). Farmacologia. 6ª edição. Rio de Janeiro, Elsevier, pp. 104-106, 240-244, 363-364, 395-396, 427-435, 663-664, 699-700, 772- 774.

REVISTA ABCD EM FOCO. **Revista da Associação Brasileira de Colite Ulcerativa e Doença de Crohn.** Ed. 63/2017.

REVISTA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO. **Doenças inflamatórias intestinais.** Vol. 11 nº 4, 2015.

RIBEIRO ICT. **Doença de Crohn: Etiologia, Patogénese e suas Implicações.** Covilhã, 2009. 99f. Dissertação de Mestrado de Medicina – Universidade da Beira Interior.

ROJAS, B. R.; COVARRUBIAS, R. N.; MIRANDA, B. J.; PÉREZ, A. O.; EDITH; GOMPERTZ, G. M. Ventajas de la medición de niveles plasmáticos de infliximab en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal / Advantages of level measurement of infliximab in patients with inflammatory bowel disease. **Rev Hosp Clín Univ Chile**, 2016; 27: 240 - 5

ROSENKRANZ, H. S.; KLOPMAN, G. A re-examination of the genotoxicity and carcinogenicity of azathioprine. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 251, n. 1, p. 157-161, 1991.

SANTOS, J. C. et al: Rev. Assoc. Med. Bras. vol.63 no.5 São Paulo May 2017

SANTOS, R. M. et al: **Arq. Gastroenterologia**. vol.54 no.2 São Paulo Apr./June 2017 Epu Mar 16, 2017.

SAWANT, S.G.; FIELDEN, M.R. E BLACK, K.A. (2014). Evaluation of genotoxicity testing of FDA approved large molecule therapeutics. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 70, pp.87-97.

SCRIBANO, M., L., E PRANTERA, C. (2013). Use of antibiotics in the treatment of Crohn's disease. **World Journal of Gastroenterology**, 19(5), pp.648-653.

SHANAHAN, F. Separating the microbiome from the hyperbolome. **Genome medicine**, v. 7, n.1, p. 17, jan. 2015.

SILVA, F. C.; BARROS, M. A. B.; VIANA, R. R.; ROMÃO, N.; OLIVEIRA, M. S.; MENEGUETTI, D. U. O. Avaliação de mutagênese provocada por sulfato de ferro através do teste micronúcleo em células da medula óssea de camundongos. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**. v. 2, n. 1, p. 13 - 22, 2011.

SINGARAJU, M.; SINGARAJU, S.; PARWANI, R.; WANJARI, S. Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: A micronucleus study. **J Cytol**. v. 29, n. 1, p. 1-5, 2012.

SOUZA MM; BELASCO AG; NASCIMENTO JEA. Perfil Epidemiológico dos Pacientes de Doença Inflamatória Intestinal do Estado de Mato Grosso. Cuiabá. **Rev Bras Coloproct**, v. 28, n.3, p. 324-328, 2008.

SPIVAK, G.; COX, R. A.; HANAWALT, P. C. New applications of the Comet assay: Comet-FISH and transcription-coupled DNA repair. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 681, n. 1, p. 44-50, 2009.

STOLFI, C.; PALLONE, F.; MONTELEONE, G. Colorectal cancer chemoprevention by mesalazine and its derivatives. **BioMed Research International**, v. 2012, 2012.

TANG, J.; SHARIF, O.; PAI, C.; SILVERMAN, A. L. Mesalamine protects against colorectal cancer in inflammatory bowel disease. **Digestive diseases and sciences**, v. 55, n. 6, p. 1696-1703, 2010.

TAYLOR, S. et al. METRIC (MR Enterography or uTRasound in Crohn's disease): a

study protocol for a multicentre, non-randomised, single-arm, prospective comparison study of magnetic resonance enterography and small bowel ultrasound compared to a reference standard in those. **BMC gastroenterology**, v. 14, p. 142, jan. 2014.

THYBAUD, V. ET AL. (2011). Strategies in case of positive in vivo results in genotoxicity testing. **Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 723, pp.121-128.

TOLBERT, P. E.; SHY, C. M.; ALLEN, J. W.; Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users, **Am. J. Epidemiol**, v. 134, p. 840-850, 1991.

TORRES-BUGARÍN, O.; ZAVALA-CERNA, M. G.; NAVA, A.; FLORES-GARCÍA, A.; RAMOS-IBARRA, M. L. Potential uses, limitations, and basic procedures of micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells. **Disease markers**, v. 2014, 2014.

VANPARYS, P. ET AL. (2012). Application of in vitro cell transformation assays in regulatory toxicology for pharmaceuticals chemicals, food products and cosmetics. **Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 744, pp.111-116.

VARGAS, R. D. Epidemiology of inflammatory bowel disease: ¿why there are differences between North America and Latin America? **Revista Colombiana de Gastroenterología**, v. 25, n. 2, p. 103–105.

VELAYOS, F. S.; TERDIMAN, J. P.; WALSH, J. M. Effect of 5-aminosalicylate use on colorectal cancer and dysplasia risk: a systematic review and metaanalysis of observational studies. **The American journal of gastroenterology**, v. 100, n. 6, p. 1345, 2005.

YAO, Y.; DAI, W. Genomic instability and cancer. **Journal of carcinogenesis & mutagenesis**, v. 5, 2014.

## ANEXO A- COMPROVAÇÃO DE SUBMISSÃO DE ARTIGO

2008/2018 ScholarOne Manuscripts

 **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**

[Home](#)

[Author](#)

---

# Submission Confirmation

[Print](#)

---

## Thank you for your submission

---

**Submitted to**  
Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

**Manuscript ID**  
BJPS-2018-0686

**Title**  
EVALUATION OF GENOTOXICITY PROFILE PATIENTS WITH CROHN'S DISEASE TREATMENT WITH INFLIXIMAB, AND ASSOCIATIONS.

**Authors**  
pereira, Paulo

**Date Submitted**  
20-Aug-2018

---

[Author Dashboard](#)

---

© Clarivate Analytics | © ScholarOne, Inc., 2018. All Rights Reserved.  
ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.  
ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,767 and #7,263,655.

[@ScholarOneNews](#) | [System Requirements](#) | [Privacy Statement](#) | [Terms of Use](#)

---

<https://mc04.manuscriptcentral.com/bjps-scielo> 1/2

## ANEXO B- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

UFPI - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 2.651.268

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_857711.pdf	04/05/2017 08:29:04		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_HU.pdf	04/05/2017 08:28:11	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TCUD.pdf	04/05/2017 08:27:25	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TERMO_DE_CONFIDENCIALIDADE.pdf	04/05/2017 08:27:01	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Outros	Curriculo_Roberta_Mayara_de_Moura_Rocha.pdf	17/03/2017 12:22:35	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Outros	Curriculo_Paulo_Leal_Pereira.pdf	17/03/2017 12:21:15	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Outros	Curriculo_Hilns_Rocha_e_Silva.pdf	17/03/2017 12:20:53	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Outros	Curriculo_Luciano_da_Silva_Lopes.pdf	17/03/2017 12:20:28	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	17/03/2017 11:25:56	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_DE_PESQUISA.pdf	17/03/2017 11:22:21	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Outros	CARTA_DE_APROVACAO.pdf	17/03/2017 09:10:59	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Outros	CARTA_DE_ENVIO.pdf	17/03/2017 09:10:08	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AUTORIZACAO_INSTITUCIONAL.pdf	17/03/2017 09:04:16	Luciano da Silva Lopes	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	17/03/2017 09:01:31	Luciano da Silva Lopes	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

TERESINA, 08 de Maio de 2017

*Luciano da Silva Lopes*

Assinado por:  
Ione Maria Ribeiro Soares Lopes  
(Coordenador)

**Prof.ª Dr.ª Ione Maria R. S. Lopes**  
Coordenadora do CEP-HU/UFPI

Endereço: Campus Ministro Petrônio Portella S/N, Bairro Ininga, Teresina, PI  
Bairro: ININGÁ CEP: 64.069-550  
UF: PI Município: TERESINA  
Telefone: (86)3228-5244 Fax: (86)3237-2080 E-mail: comitedeticaduhup4@gmail.com

Página 03 de 04

**ANEXO C- INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS -  
QUESTIONÁRIO PESSOAL**



**EBSERH**  
HOSPITAIS UNIVERSITÁRIOS FEDERAIS

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUI  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO  
UNIDADE DE FARMÁCIA CLÍNICA**



**ATENÇÃO FARMACÊUTICA A PORTADORES DE  
DOENÇA INFLAMATORIA INTESTINAL**

Formulário de coleta de dados

**Responsável pela entrevista:** \_\_\_\_\_ **Data:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

**DADOS DO USUARIO**

---

**Número do Cadastro:** \_\_\_\_\_ **Data de Início (IFX/ADA):** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**1. Nome:** \_\_\_\_\_

**2. Telefone:** Residencial: \_\_\_\_\_ Móvel: \_\_\_\_\_ **3. Idade:** \_\_\_\_\_

**4. Profissão/Ocupação:**

(1) Servidor público (2) Dona de casa (3) Estudante (4) Outros \_\_\_\_\_ (5) Não

**5. Renda:** \_\_\_\_\_ (1) até 1 salário (< R\$ 880,00)

(2) 1 a 3 salários (R\$ 880,01 a R\$ 2640,00) (3) 3 a 5 salários (R\$ 2640,01 - R\$ 4400,00)

(4) 5 a 15 salários (R\$ 4400,01 – R\$ 13.200,00) (5) acima de 15 salários (>R\$ 13.200,00)

**5. Estado Marital:** (1) solteiro (2) casado (3) separado (4) divorciado (5) viúvo

**6. Dados antropométricos**

**6.1. Peso:** \_\_\_\_\_ **6.2. Altura:** \_\_\_\_\_ **6.3. Índice de Massa Corpórea:** \_\_\_\_\_

**7. Data de nascimento:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ **8. Sexo:**(1) M (2) F

**8. Cor da pele autorreferida:** (1) branco (2) pardo (3) amarelo (4) negro (5) indígena

**9. Naturalidade:** \_\_\_\_\_ **UF:** \_\_\_\_\_

**10. Reside em:** \_\_\_\_\_ **UF:** \_\_\_\_\_

**11. Grau de instrução do paciente (anos de estudo):** \_\_\_\_\_

Idade de início dos estudos: \_\_\_\_\_ Idade com a qual terminou os estudos: \_\_\_\_\_

---

**HISTÓRIA CLÍNICA DO USUARIO**

---

**12. Doença inflamatória intestinal:** Diagnóstico \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

(1) Doença de Crohn (2) Retocolite Ulcerativa (3) Outra \_\_\_\_\_

**13. Localização: DC** (1) Cólon (2) Íleo-cólon (3) Cólon (4) outras

**RCU** (1) Proctite (2) Retossigmoidite (3) Colite esquerda (4) Colite extensa

**14. Atividade da doença:** (1) Em atividade (2) Remissão (3) Indeterminada

Data								
IADC/MAYO								

**15. Complicações?** (1) Sim (2) Não

- **Intestinais**(1) fistulas (2) fissuras (3) plicomasanaais

- **Extraintestinais** (1) articulares (2) dermatológicas (3) oftalmológicas (4) urológicas  
(5) hepatobiliares (6) pulmores (7) vasculares (8) outras \_\_\_\_\_

**16. Tratamento cirúrgico:** (1) Sim (Quais relacionadas à DII?) (2) Não

I. \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ **Cirurgia:** \_\_\_\_\_

II. \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ **Cirurgia:** \_\_\_\_\_

III. \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ **Cirurgia:** \_\_\_\_\_

**17. História familiar de DII?** (1) Sim (2) Não

**17.1 Parentesco:** \_\_\_\_\_

**18. Patologias apresentadas – Tempo de diagnóstico (<1ano; ≥1ano; ≥2 anos):** (1)Sim (2)Não

(1)Hipertensão - \_\_\_\_\_ (2) Diabetes - \_\_\_\_\_ (3) Dislipidemias - \_\_\_\_\_

(4) Outras \_\_\_\_\_

---

**HÁBITOS DE VIDA DO USUARIO**

---

**19. Consume bebidas alcoólicas?** (1) Sim (Qual a frequência?) (2) Não \*Já bebeu? \_\_\_anos

Parou? Há \_\_\_ anos

Frequência (1) Diariamente (2) Semanalmente (3) Mensalmente (4) Ocasionalmente

**20. Tabagista:** (1) Sim (Qual a frequência?) (2) Não \*Já fumou?\_\_\_\_\_ Parou? Há \_\_\_ anos

Frequência (1) Diariamente (2) Semanalmente (3) Mensalmente (4) Ocasionalmente

**21. Realiza atividade física?**(1) Sim, especifique a frequência (2) Não

Frequência ( ) Diariamente ( ) Semanalmente ( ) Mensalmente ( ) Ocasionalmente

**22. Hábitos alimentares:**

(1) Ingestão de frutas e verduras (\_\_\_\_\_)

Frequência ( ) Diariamente ( ) Semanalmente ( ) Mensalmente ( ) Ocasionalmente

(2)Ingestão de carnes vermelhas (\_\_\_\_\_)

Frequência ( ) Diariamente ( ) Semanalmente ( ) Mensalmente ( ) Ocasionalmente

(3)Ingestão de peixes (\_\_\_\_\_)

Frequência ( ) Diariamente ( ) Semanalmente ( ) Mensalmente ( ) Ocasionalmente

(4)Ingestão de alimentos ricos em lipídeos (\_\_\_\_\_)

Frequência ( ) Diariamente ( ) Semanalmente ( ) Mensalmente ( ) Ocasionalmente

(5)Ingestão de alimentos ricos em carboidratos (\_\_\_\_\_)

Frequência ( ) Diariamente ( ) Semanalmente ( ) Mensalmente ( ) Ocasionalmente

(6) Alimentos que causam desconforto:

Nº CARTÃO SUS: \_\_\_\_\_

### PERFIL FARMACOTERAPÊUTICO DO USUARIO

Medicamento/dose	Posologia	Data		Quantidade (contagem de comprimidos)		
		Início	Fim	P	U	%
		__/__/__	__/__/__			
		__/__/__	__/__/__			
		__/__/__	__/__/__			
		__/__/__	__/__/__			
		__/__/__	__/__/__			
		__/__/__	__/__/__			
		__/__/__	__/__/__			
		__/__/__	__/__/__			
		__/__/__	__/__/__			

LEGENDA: P (prescrita nos últimos 30 dias); U (utilizada nos últimos 30 dias).

### TESTE DE MORISKY-GREEN

“Você, alguma vez, esquece de tomar o seu remédio?” \_\_\_\_\_

“Você, às vezes, é descuidado quanto ao horário de tomar o seu remédio?” \_\_\_\_\_

“Quando você se sente bem, alguma vez, você deixa de tomar seu remédio?” \_\_\_\_\_

“Quando você se sente mal, com o remédio, às vezes, deixa de tomá-lo?” \_\_\_\_\_

### TESTE DE HAYNES-SACKETT

**1ª etapa:** "A maioria dos pacientes tem dificuldade em tomar todos os seus comprimidos".

**2ª etapa:** "Você tem dificuldade para tomar todos os seus?". ( ) SIM ( ) NÃO

➤ Neste último mês quantas vezes você esqueceu-se de tomar seus medicamentos? \_\_\_\_\_

Que dificuldades você encontra para tomar todos os seus medicamentos?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### RETIRADA DE MEDICAMENTOS NA FARMÁCIA

**Medicamento (s):** \_\_\_\_\_

RENOVAÇÃO	DATA IDEAL	ATRASSO (DATA REAL)	INTERVALO IDEAL	INTERVALO REAL
<b>PRIMEIRA</b>				
<b>SEGUNDA</b>				
<b>TERCEIRA</b>				
<b>QUARTA</b>				

**Medicamento (s):** \_\_\_\_\_

RETIRADA	DATA IDEAL	DATA REAL	INTERVALO IDEAL	INTERVALO REAL	%
<b>1 MÊS</b>					
<b>2 MÊS</b>					
<b>3 MÊS</b>					
<b>4 MÊS</b>					
<b>5 MÊS</b>					
<b>6 MÊS</b>					
<b>7 MÊS</b>					
<b>8 MÊS</b>					
<b>9 MÊS</b>					
<b>10 MÊS</b>					
<b>11 MÊS</b>					
<b>12 MES</b>					

**Medicamento (s):** \_\_\_\_\_

RETIRADA	DATA IDEAL	DATA REAL	INTERVALO IDEAL	INTERVALO REAL	%
<b>1 MÊS</b>					
<b>2 MÊS</b>					
<b>3 MÊS</b>					
<b>4 MÊS</b>					
<b>5 MÊS</b>					
<b>6 MÊS</b>					
<b>7 MÊS</b>					
<b>8 MÊS</b>					
<b>9 MÊS</b>					
<b>10 MÊS</b>					
<b>11 MÊS</b>					
<b>12 MES</b>					