

ALEX PINHEIRO SIMIQUELI DE FARIA

**AVALIAÇÃO DO PERFIL OXIDATIVO NA RINITE ALÉRGICA RELACIONADA À
CLASSIFICAÇÃO CLÍNICA: ESTUDO TRANSVERSAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Silvia Almeida Cardoso

Coorientadores: Tiago Ricardo Moreira
Leandro Licursi de Oliveira
Valker Araújo Feitosa

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

F224a
2022 Faria, Alex Pinheiro Simiqueli de, 1977-
Avaliação do perfil oxidativo na rinite alérgica relacionada
à classificação clínica: estudo transversal / Alex Pinheiro
Simiqueli de Faria. – Viçosa, MG, 2022.
1 dissertação eletrônica (47 f.): il.

Inclui apêndices.

Orientador: Silvia Almeida Cardoso.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Medicina e Enfermagem, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.786>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Rinite alérgica - Pacientes - Métodos estatísticos.
2. Estresse oxidativo. 3. Marcadores bioquímicos. I. Cardoso,
Silvia Almeida , 1981-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Medicina e Enfermagem. Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD 22. ed. 614.5993


ALEX PINHEIRO SIMIQUELI DE FARIA

**AVALIAÇÃO DO PERFIL OXIDATIVO NA RINITE ALÉRGICA RELACIONADA À
CLASSIFICAÇÃO CLÍNICA: ESTUDO TRANSVERSAL**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 16 de dezembro de 2022.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 ALEX PINHEIRO SIMIQUELI DE FARIA
Data: 23/12/2022 10:27:03-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Alex Pinheiro Simiqueli de Faria
Autor

Documento assinado digitalmente
 SILVIA ALMEIDA CARDOSO
Data: 23/12/2022 10:13:11-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Silvia Almeida Cardoso
Orientadora

À minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por se fazer presente em minha vida em todos os momentos.

Aos meus pais, por tanto carinho, dedicação e torcida ao longo da minha trajetória.

Aos meus irmãos, pelos quais tenho profunda admiração e amor.

A minha esposa e minha filha, pelo privilégio de dividirem comigo momentos tão maravilhosos.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

*“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo
para a vitória é o desejo de vencer.”*

(Mahatma Gandhi)

RESUMO

FARIA, Alex Pinheiro Simiqueli de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2022. **Avaliação do Perfil Oxidativo na Rinite Alérgica relacionada à classificação clínica: estudo transversal.** Orientadora: Silvia Almeida Cardoso. Coorientadores: Tiago Ricardo Moreira, Leandro Licursi de Oliveira e Valker Araújo Feitosa.

A Rinite Alérgica é uma patologia de elevada prevalência na população global. Está associada a comprometimento da capacidade laboral e da qualidade de vida dos indivíduos acometidos. Em sua fisiopatologia destaca-se a participação de forças oxidantes e do sistema protetor antioxidante. O objetivo central do presente estudo foi analisar o perfil oxidativo de pacientes portadores de Rinite Alérgica Persistente, relacionando à sua classificação clínica (leve ou moderada-severa). Trata-se de um estudo do tipo transversal, com coleta de dados realizada durante atendimentos clínicos ocorridos entre 09/2021 e 02/2022 na Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Após a estratificação clínica de pacientes previamente diagnosticados foi realizada uma coleta de sangue periférico para determinação dos parâmetros hematológicos e para avaliação espectrofotométrica dos marcadores relacionados ao perfil oxidativo. A análise estatística foi realizada através do programa GraphPad Prism 7.0 program (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA) e a significância estatística foi considerada quando $p < 0,05$. Os dois grupos avaliados apresentaram predomínio do sexo feminino, média etária de 29,6 anos e em sua maioria relataram fazer uso de automedicação. Não foi observado diferença significativa na capacidade antioxidante total entre os grupos avaliados, entretanto os níveis de atividade da enzima antioxidante Catalase se apresentaram significativamente reduzidos no grupo com rinite moderada-severa ($91,2 \pm 90,5$ vs. $148,5 \pm 111,3$ $\mu\text{m/L}$; $p=0,048$), interessante observamos correlação positiva entre os níveis de catalase com proteínas carboniladas ($r=0,437$ e $p=0,0253$) e de catalase com índice de massa corporal ($r=0,4109$ e $p=0,037$) apenas neste grupo. Nossos dados demonstram que os pacientes com quadros mais graves de rinite alérgica apresentam maiores alterações dos marcadores oxidativos, que se correlacionam positivamente com fatores de risco de agravo do referido quadro.

Palavras-chave: Rinite Alérgica. Estresse Oxidativo. Antioxidantes.

ABSTRACT

FARIA, Alex Pinheiro Simiqueli de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2022. **Oxidative Profile evaluation in Allergic Rhinitis related to it's clinical classification: a cross-sectional study.** Adviser: Silvia Almeida Cardoso. Co-advisers: Tiago Ricardo Moreira, Leandro Licursi de Oliveira and Valker Araújo Feitosa.

Allergic Rhinitis is a high prevalence disease among global population. It's associated with work and quality of life impairment of affected individuals. On it's pathophysiology Oxidative Stress and Antioxidant Protector System participation is remarked. The aim of this study was to analyze the oxidative profile of patients with Persistent Allergic Rhinitis, relating to their clinical classification (mild or moderate-severe). This is a cross-sectional study, with data collection performed during clinical appointments occurred between 09/2021 and 02/2022 at the health division of Universidade Federal de Viçosa. After clinical stratification of previously diagnosed patients and allergic etiology confirmation through Skin Prick Test, peripheral blood samples were collected to determine hematological parameters and spectrophotometric evaluation of oxidative profile-related markers. Statistical analysis was performed using the GraphPad Prism 7.0 program (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA) and statistical significance was considered when $p < 0.05$. The two evaluated groups showed a predominance of females with a mean age of 29,6 years and their majority reported self-medication use. There was no significant difference between the total antioxidant capacity of the evaluated groups. However, the activity levels of the antioxidant enzyme catalase were significantly reduced in the group with moderate-severe rhinitis (91.2 ± 90.5 vs. $148.5 \pm 111,3 \mu\text{m/L}$; $p=0.048$). Interestingly, we observed a positive correlation between catalase levels and carbonylated proteins ($r=0.437$ and $p=0.0253$) and catalase and body mass index ($r=0.4109$ and $p=0.037$) only in this group. Our data demonstrate that patients with more severe conditions of allergic rhinitis have more significant alterations in oxidative markers, which are positively correlated with risk factors for that condition worsening.

Keywords: Allergic Rhinitis. Oxidative Stress. Antioxidants.

LISTA DE TABELAS

Quadro 1 – Classificação da Rinite Alérgica	13
---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CAT	Catalase
EROS	Espécies reativas de oxigênio
FRAP	Capacidade de redução férrica
GSHPX	Glutathiona peroxidase
ITA	Imunoterapia alérgeno-específica
MDA	Malondialdeído
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
RA	Rinite Alérgica
SOD	Superóxido dismutase
WAO	Organização Mundial de Alergia
μL	Microlitro
μM	Micrômetro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1. Rinite Alérgica.....	12
2.2. Estresse oxidativo.....	14
2.3. Evidências científicas de marcadores laboratoriais na RA.....	15
3. OBJETIVOS.....	17
3.1. Objetivo geral.....	17
3.2. Objetivos específicos.....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1. Critérios de inclusão.....	19
4.2. Critérios de exclusão.....	19
4.3. Coleta de amostra biológica.....	19
4.4. Análise do perfil oxidativo.....	20
4.5. Avaliação dos marcadores oxidativos.....	20
4.5.1. Capacidade antioxidante total.....	20
4.5.2. Análise dos marcadores de dano oxidativo.....	20
4.5.3. Análise das enzimas antioxidantes.....	22
4.6. Análise estatística.....	23
4.7. Construção do Podcast.....	23
5. RESULTADOS.....	23
5.1. Artigo científico.....	23
5.2. Produto Técnico.....	35
5.2.1. Introdução.....	35
5.2.2. Capítulo 1: Rinite Alérgica.....	36
5.2.3. Capítulo 2: <i>Stress</i> Oxidativo e a Rinite Alérgica.....	37
5.2.4. Capítulo 3: Abordagem Terapêutica atual e novas perspectivas.....	40
6. CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	44
APÊNDICE 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	45
APÊNDICE 2 – Instrumento de coleta de dados.....	47

1. INTRODUÇÃO

A rinite alérgica (RA) é uma patologia de elevada prevalência na população global. Acarreta elevados custos econômicos, além de prejuízos à qualidade de vida e às atividades produtivas das pessoas acometidas (BROŽEK *et al.*, 2017; KESWANI; PETERS, 2016; MEHUYS *et al.*, 2014; NACLERIO *et al.*, 2020; SAVOURÉ *et al.*, 2022; WAKAMIYA *et al.*, 2022). Seu diagnóstico é baseado em achados clínicos principais: espirros, prurido, coriza e obstrução nasal; e pode ser confirmado através de teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (*Prick Test*) ou através de dosagem sérica de IgE específicas (BROŽEK *et al.*, 2017; SAKANO *et al.*, 2018).

Assim como na asma, a fisiopatologia da RA está relacionada com a exposição do indivíduo atópico à antígenos ambientais que serão apresentados pelas células dendríticas aos linfócitos T CD4. Esses respondem com liberação de citocinas de padrão Th2, o que leva a produção de IgE específica contra o antígeno em questão, que interagem com a superfície de mastócitos e basófilos. Em exposições subsequentes, o antígeno se liga diretamente à IgE na superfície das células anteriormente mencionadas, levando à liberação de mediadores químicos responsáveis pelo aparecimento dos sintomas (HAN *et al.*, 2021; NACLERIO *et al.*, 2020; SAKANO *et al.*, 2018).

A participação do estresse oxidativo na fisiopatologia inflamatória da RA vem sendo estabelecida, uma vez que o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio pelas células epiteliais e inflamatórias extrapola a capacidade antioxidante, amplificando a quebra das junções intercelulares da barreira epitelial. Isso aumenta a permeabilidade aos antígenos inalados, levando tanto à amplificação quanto a perpetuação do processo inflamatório alérgico (CELIK *et al.*, 2012; EMIN *et al.*, 2012; HAN *et al.*, 2021; SAKANO *et al.*, 2018).

Embora existam estudos bem desenhados abordando a participação das forças oxidantes e antioxidantes na RA, eles contemplam em sua maioria a população pediátrica. Existe, portanto, um hiato de informação a respeito da população adulta. Diante ao exposto o objetivo do presente estudo é analisar o perfil oxidativo de pacientes portadores de RA persistente, relacionando a sua classificação clínica (leve ou moderada-severa).

A presente dissertação foi elaborada de acordo com as normas estabelecidas pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal de Viçosa – UFV. O corpo do trabalho compreende uma introdução, objetivos gerais e específicos, metodologia, um podcast, um artigo científico e uma conclusão. O Podcast intitulado “**Rinite Alérgica: fisiopatologia, Stress Oxidativo e manejo clínico**” foi divulgado na Plataforma **SPOTFY** em novembro de 2022. O artigo intitulado “**Avaliação do Perfil Oxidativo na Rinite Alérgica relacionada à classificação clínica: estudo transversal**” foi formatado de acordo com as normas da revista *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, (Qualis B1 – Medicina I), para a qual o artigo foi submetido.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Rinite Alérgica

A RA é uma patologia extremamente frequente. Em recente artigo de revisão, Savouré e colaboradores avaliaram 5878 estudos que abordavam prevalência de rinite. Englobando casos classificados como de etiologia alérgica, os não alérgicos e os não especificados, encontraram uma prevalência global variando entre 1 e 60%, sendo especificamente a prevalência média de RA de 18,1%. Outro achado importante foi o aumento da prevalência de RA ao longo dos anos (SAVOURÉ *et al.*, 2022).

Além do desconforto causado por sua sintomatologia, com impacto direto na qualidade de vida, a RA é relacionada a complicações como distúrbios do sono, do aprendizado, asma, rinosinusite crônica, Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica e otite média (KESWANI; PETERS, 2016).

A RA é definida como processo inflamatório crônico da mucosa de revestimento nasal, aonde observa-se geralmente 4 sintomas principais: coriza, espirros, obstrução e prurido nasal (BOUSQUET *et al.*, 2008; SAKANO *et al.*, 2018). A confirmação desta etiologia pode ser realizada através de exames que comprovem produção de IgE específica contra determinado antígeno, como o teste alérgico de puntura (*Prick Test*) e a dosagem de IgE específica no soro (BROŽEK *et al.*, 2017).

Quanto à sua classificação clínica, a Organização Mundial de Alergia (WAO) propõe que seja realizada considerando-se critérios de duração e de gravidade (Quadro 1).

Quadro 1: Classificação da Rinite Alérgica
<p>1- “Intermitente” significa que os sintomas estão presentes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Menos que 4 dias por semana, • Ou por menos que 4 semanas.
<p>2- “Persistente” significa que os sintomas estão presentes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mais que 4 dias por semana, • E por mais que 4 semanas.
<p>3- “Leve” significa que nenhum dos seguintes itens estão presentes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Distúrbio do sono, • Prejuízo das atividades diárias, lazer e/ou esportes, • Prejuízo escolar ou no trabalho, • Sintomas que geram incômodo.
<p>4- “Moderada-severa” significa que um ou mais dos seguintes itens estão presentes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Distúrbio do sono, • Prejuízo das atividades diárias, lazer e/ou esportes, • Prejuízo escolar ou no trabalho, • Sintomas que geram incômodo.

Traduzido de: BOUSQUET, J.; VAN CAUWENBERGE, P.; KHALTAEV, N. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 108, p. S147- 334, 2001.

Quando os sintomas estão presentes menos que 4 dias por semana ou por menos que 4 semanas a RA é classificada como intermitente, enquanto na persistente ocorrem por períodos maiores. Na classificação por gravidade consideramos moderados-severos aqueles onde ocorre prejuízo do sono; das atividades diárias, lazer ou esportes; das atividades escolares, trabalho e/ou presença de sintomas incômodos. Nos quadros leves essas queixas não ocorrem (BOUSQUET; VAN CAUWENBERGE; KHALTAEV, 2001).

A classificação clínica é importante parâmetro de avaliação e a partir dela a abordagem terapêutica, seja clínica e/ou imunológica (imunoterapia alérgico-específica), é estabelecida. O uso de anti-histamínicos não sedativos (2ª geração) e/ou corticoides tópicos nasais nos quadros intermitentes e o uso de anti-histamínicos

tópicos nasais, corticoides tópicos nasais, anti-histamínicos orais não sedativos, anti-leucotrienos e/ou imunoterapia alérgeno-específica (ITA) podem ser empregados de acordo com uma abordagem individualizada para o paciente em questão (AARESTRUP *et al.*, 2022; BROŽEK *et al.*, 2017).

Em indivíduos atópicos, a exposição a determinado alérgeno faz com que esse seja apresentado pelas células dendríticas ao linfócito T CD4. Esta célula responde com liberação de interleucinas de perfil Th2 (IL 4, IL5, IL10 e IL13), o que acarreta na produção de imunoglobulinas E específicas para este antígeno pelos linfócitos B. Essas imunoglobulinas se ligam a receptores na membrana de mastócitos e basófilos, tornando o indivíduo sensibilizado. Em exposições subsequentes os antígenos interagem com esse complexo IgE-receptor de membrana, levando a degranulação dessas células com liberação de histamina, leucotrienos e demais substâncias responsáveis pelo aparecimento dos sintomas. Além disso a perpetuação do processo inflamatório alérgico se dá pelo recrutamento de células inflamatórias como basófilos, linfócitos e neutrófilos para o sítio acometido (BOUSQUET *et al.*, 2008; HAN *et al.*, 2021; SAKANO *et al.*, 2018).

Na RA persistente a participação de alérgenos inalados como ácaros, fungos, baratas e caspa de animais domésticos como agentes etiológicos é mais frequente. Já a RA intermitente está mais relacionada a alérgenos ambientais, como pólenes e bolores (BOUSQUET *et al.*, 2008).

2.2. Estresse oxidativo

Outro mecanismo que tem sido estudado na fisiopatologia da RA é a participação do Estresse Oxidativo. Durante sua existência, todos os organismos aeróbicos estão constantemente sujeitos ao efeito oxidante dos metabólitos de oxigênio, produzidos durante o metabolismo aeróbico – que é um processo contínuo e fisiológico. Essas substâncias, conhecidas como Espécies Reativas de Oxigênio (EROS), têm efeitos deletérios ao nosso organismo, como causar lesão à membrana celular, desnaturar proteínas além de danificar ácidos nucleicos. As principais EROS descritas são o Radical Superóxido, o Peróxido de Hidrogênio, Óxido Nítrico e o Radical Hidroxil. Para conter os efeitos deletérios que das EROS existe um sistema protetor

antioxidante, composto por enzimas como a catalase, a superóxido dismutase e a glutathione peroxidase. Outras substâncias como as vitaminas A, C e E, e metais como o zinco, o cobre, o manganês e o selênio; além do ácido úrico, de carotenóides e de flavonóides também apresentam capacidade antioxidante (COMMUNICATION *et al.*, 2010; PÉREZ-TORRES *et al.*, 2021). Quando a produção de EROS se torna maior que a capacidade do sistema antioxidante em neutralizá-las, tem-se por definição o stress oxidativo (SIES, 2020; SIES; BERNDT; JONES, 2017).

A mucosa de revestimento nasal atua como uma barreira de proteção física formada pelas células epiteliais e suas junções intercelulares. A quebra dessa barreira está associada tanto ao aumento da passagem de fluidos quanto dos estímulos antigênicos (LONDON *et al.*, 2017). Na RA, a produção de EROS por células do epitélio de revestimento da mucosa nasal induzida por alérgenos e/ou oxidantes externos leva ao dano das junções intercelulares (HAN *et al.*, 2021). Assim os alérgenos atravessam essa barreira com maior facilidade, o que também aumenta sua apresentação às células do sistema imunológico, como as células dendríticas (VAN RIJT *et al.*, 2017).

Diante de evidências da correlação dos antioxidantes com a atividade anti-inflamatória, Perez e colaboradores estudaram a capacidade antioxidante enzimática de células vermelhas e células mononucleares do sangue de indivíduos durante reação alérgica a pólenes ou ácaros. Nas células mononucleares dos indivíduos alérgicos observaram elevação da Superóxido dismutase (SOD) e da Catalase (CAT) quando comparadas aos níveis apresentados pelo grupo controle, composto por não alérgicos. Nos eritrócitos, níveis maiores de Glutathione peroxidase (GSHPx) e SOD foram encontrados ($p < 0,005$ e $p < 0,001$ respectivamente) (PEREZ *et al.*, 1999).

2.3. Evidências científicas de marcadores laboratoriais na RA

Na avaliação laboratorial de portadores de RA, dois achados geralmente são observados quando comparados com exames de indivíduos não alérgicos: aumento da contagem de eosinófilos e aumento de IgE total (EMIN *et al.*, 2012).

Entretanto, outras alterações também podem ser observadas. Comparando 209 pacientes portadores de RA com 243 indivíduos saudáveis, Goker e colaboradores obtiveram valores maiores do índice neutrófilos-linfócitos no primeiro grupo. Além disso, os níveis desse índice foram significativamente maiores ($p=0,003$) entre os indivíduos com quadro moderado-severo, o que sugere sua relação com a gravidade dos quadros de RA (GÖKER *et al.*, 2019).

Outro achado interessante é a redução de ferro metabolicamente ativo com redução de ferro sérico em mulheres descrita por Petje e colaboradores, ao estudar indivíduos com RA (PETJE *et al.*, 2021).

No tocante ao perfil oxidativo, diversos grupos científicos têm estudado sua dinâmica na RA. Em 2012, um estudo englobando 106 crianças com RA persistente evidenciou aumento do *status* oxidativo total e redução da atividade antioxidante total ($p \leq 0,001$) ao compará-las com 70 crianças saudáveis (EMIN *et al.*, 2012).

Da mesma forma, um estudo que comparou 28 pacientes asmáticos e 17 portadores de RA com grupo controle composto por 74 indivíduos saudáveis observou níveis elevados de um marcador de peroxidação lipídica (malondialdeído), e redução do antioxidante glutaciona nos grupos de atópicos (asma e RA), em dosagens nasais e sanguíneas ($p < 0,01$) (CELIK *et al.*, 2012).

Semelhantemente, pesquisadores na Turquia avaliando 66 crianças recém diagnosticadas com RA observaram elevação do *status* oxidante total ($p < 0,001$) e redução dos níveis de enzima antioxidante (paraoxonase) ($p < 0,001$) quando comparados a controles saudáveis (OZKAYA *et al.*, 2013).

Já Sim e colaboradores, avaliando o *status* antioxidante total e o *status* oxidante total de escolares na Korea, divididos em portadores de RA e saudáveis, descreveu valores médios elevados de ambos os índices no primeiro grupo ($p=0,03$ e $0,048$, respectivamente). Além disso a relação *status* oxidante total-*status* antioxidante total também foi maior em portadores de RA (SIM *et al.*, 2015).

Estudando 226 escolares portadores de RA, Moon e colaboradores observaram que o *status* antioxidante total é maior naqueles que apresentavam quadros com duração superior a 6 meses, sugerindo que a atividade antioxidante é maior em quadros crônicos (MOON *et al.*, 2021).

Ao comparar o perfil oxidativo pré e pós-tratamento de portadores de RA, Kahveci e colaboradores observaram uma redução significativa do status oxidante total ($p < 0,01$) no período pós-tratamento. Não houve diferença nos valores encontrados para o status antioxidante total ou para pacientes tratados exclusivamente com corticoides tópicos nasais. Já para os pacientes em uso concomitante corticoides nasais e de anti-histamínicos uma diminuição significativa do status oxidante total foi relatada (KAHVECI *et al.*, 2021).

Novas perspectivas de tratamento da RA envolvendo uso de substâncias com efeito antioxidante têm sido exploradas recentemente. Jiang e colaboradores, estudando modelos murinos de RA, observaram redução expressiva da produção de interleucinas IL-4, IL5, IL-13, IL-25 e IL-33 ($p < 0,05$) e de IgE ($p < 0,05$) de ratos tratados com vitamina E e vitamina E associada a selênio (JIANG *et al.*, 2021).

Diante da alta prevalência, do impacto sobre a saúde dos indivíduos acometidos e do pequeno número de estudos avaliando o perfil oxidativo de adultos portadores de rinite alérgica, justifica-se a realização do presente estudo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Determinar o perfil oxidativo de pacientes portadores de Rinite Alérgica Persistente, relacionando a classificação clínica.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar o perfil sociodemográfico dos pacientes portadores de RA;
- Quantificar os marcadores hematológicos;
- Quantificar a capacidade antioxidante total, enzimas antioxidantes e marcadores de dano celular relacionados ao estresse oxidativo;
- Correlacionar a estratificação clínica de pacientes portadores de Rinite

Alérgica Persistente com o perfil oxidativo;

- Avaliar a ocorrência da automedicação (Pseudoefedrina tópica nasal; pseudoefedrina oral, anti-histamínicos, corticoides tópicos nasais e também sistêmicos), correlacionando como o perfil oxidativo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Após a autorização do Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 46764021.8.0000.5153) foi conduzido estudo observacional quantitativo do tipo transversal, com coleta de dados realizada durante o período de setembro de 2021 a fevereiro de 2022.

Foram convidados a participar pessoas identificadas como portadoras de RA persistente durante consultas realizadas na rotina habitual de trabalho do pesquisador principal, em ambulatório de clínica médica da Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa.

Antes da inclusão foram esclarecidos sobre a pesquisa e assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 1).

Durante a consultas clínicas coletou-se dados demográficos, além de clínicos relacionados à classificação da RA e ao uso de automedicação, com auxílio de instrumento estruturado (Apêndice 2).

Posteriormente os participantes foram encaminhados para realização de coleta de sangue.

O tamanho amostral foi definido por conveniência temporal (n=51). Os participantes foram estratificados em portadores de RA leve (n=24) e portadores de quadro moderado-severo (n=27) conforme preconizado pela Organização Mundial de Alergia (BOUSQUET; VAN CAUWENBERGE; KHALTAEV, 2001).

4.1. Critérios de inclusão

- Possuir idade entre 18 e 40 anos;
- Ser portador de Rinite Alérgica Persistente;
- Positividade em Teste Alérgico Cutâneo de hipersensibilidade imediata (*Prick Test*) realizado na consulta inicial.

4.2. Critérios de exclusão

- Possuir outras doenças do espectro atópico em atividade (Asma ou Dermatite Atópica);
- Pacientes identificados com comorbidades relevantes (doenças cardíacas, imunodeficiências, doenças neurológicas graves ou que prejudiquem a interlocução com a equipe avaliadora, neoplasias, pós-operatório recente, internação recente, pós doença aguda recente);
- Uso crônico ou recente (a menos de 10 dias) de corticoide sistêmico ou uso atual de imunossupressores ou imunobiológicos (anticorpos monoclonais);
- Uso recente (a menos de 7 dias) de anti-histamínicos;
- Apresentar outras formas de rinite que não RA;

4.3. Coleta de amostra biológica

Foram coletados dois tubos de sangue através de punção venosa periférica, realizada por profissional devidamente habilitado. Um deles para análise de hemograma, leucograma e contagem de plaquetas e o outro utilizado para obtenção de soro (que foi armazenado a -20°C para análises posteriores).

4.4 Análise do perfil oxidativo

O perfil oxidativo sérico dos indivíduos (capacidade antioxidante total, marcadores de dano oxidativo e das enzimas antioxidantes) foi definido através de dosagens espectrofotométricas realizadas no soro coletado.

Inicialmente foi realizada uma quantificação proteica pelo método descrito por Bradford (1976) utilizando albumina de soro bovino como padrão (BSA), com o intuito de efetuar a normalização entre as amostras coletadas. Para isso, 10 µl de soro e 190 µl de reagente de Bradford foram adicionados em microplacas de 96 poços e submetidos à leitura a 595 nm em leitor de placas (Thermo Scientific-Multiskan™ GO).

4.5. Avaliação dos marcadores oxidativos

4.5.1. Capacidade antioxidante total

A dosagem sérica da capacidade antioxidante total foi baseada no método da capacidade de redução férrica (FRAP), com as seguintes modificações: 10 µL de amostra/padrão serão adicionados a 220 µL de solução FRAP em microplacas de poliestireno e incubadas no escuro por 30 minutos. Como agente oxidante foi utilizada solução de Trolox, partindo de uma concentração inicial de 2 mmol.L⁻¹. As 9 leituras foram realizadas em espectrofotômetro Multiskan GO Microplate Spectrophotometer (Thermo Scientific) em comprimento de onda 570 nm. As concentrações relativas às amostras foram obtidas a partir da curva padrão sendo os resultados expressos em µM.

4.5.2. Análise dos marcadores de dano oxidativo

O óxido nítrico foi indiretamente mensurado estimando a concentração de nitrito no soro dos voluntários pelo método de Griess (1879). Neste método, o nitrito, usado como indicador da síntese de óxido nítrico, foi detectado pelo Reativo de Griess, composto por 1% de sulfanilamida e 0,1% naftiletileno-diamina em 2,5% H₃PO₄. Dessa forma, foram adicionados 50 µl de soro em microplacas de 96 poços contendo 100 µl do Reativo de Griess. Esta mistura foi, então, incubada no escuro e em temperatura ambiente durante 10 minutos. Posteriormente, foi realizada leitura em 570 nm. A concentração do óxido nítrico foi mensurada utilizando curva padrão

com concentrações conhecidas (μM) de nitrito de sódio.

Dosagem de proteínas carboniladas foi realizada como forma de avaliar a oxidação de proteínas por carbonilação e, conseqüentemente, o dano oxidativo às proteínas. As concentrações de proteínas carboniladas no soro foram determinadas de acordo com a metodologia de Levine e colaboradores (1990). Dessa forma, o precipitado obtido pela centrifugação do soro foi ressuspensionado com 1 ml de tampão fosfato (0,1 M, pH 7,0) e este dividido em dois eppendorfs (amostras e brancos), com 500 μL em cada. Em seguida, ambos foram precipitados com 500 μl de solução de TCA 10% e centrifugados a 5000 g, durante 10 minutos, a 4°C e o sobrenadante descartado. Posteriormente, somente as amostras foram incubadas em temperatura ambiente, durante 30 minutos, com 500 μl de solução contendo 2,4-dinitrofenilhidrazina 10mM 18 e HCL 2M. Logo após, as amostras e os brancos foram novamente precipitados com TCA 10 % e centrifugados, durante 10 minutos, a 5000 g. Os precipitados foram, então, lavados duas vezes com solução etanol: acetato de etila (1: 1) e centrifugados a 10000 g, durante 10 minutos, a 4°C e o sobrenadante descartado. Por fim, os precipitados obtidos foram ressuspensionados em 1 ml de solução de SDS 6%, novamente centrifugados a 10000 g, durante 10 minutos, a 4°C e 200 μl dos sobrenadantes foram cuidadosamente retirados e submetidos à leitura a 370 nm 10 em leitor de placas (Thermo Scientific-MultiskanTM GO). O conteúdo de proteínas carboniladas foi expresso em ηmol de proteínas carboniladas por ml de amostra.

A peroxidação lipídica (TBARS) foi avaliada para quantificar os produtos provenientes da peroxidação lipídica (peróxidos lipídicos, malondialdeídos e demais aldeídos de baixo peso molecular). As amostras de soro foram submetidas à reação com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com a metodologia de Buege e Aust (1978). Dessa forma, 200 μl de cada amostra foram adicionados a 400 μl de solução de TBARS (15% de TCA, 0,375% de TBA e 0,25M de HCL), agitados no vórtex durante 10 segundos e colocados em banho-maria, a 90°C, durante 40 minutos. Em seguida, após resfriamento, foi efetuada a extração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico com a adição de 600 μl de n-butanol, seguida da centrifugação a 3500 rpm, durante 5 minutos. Por fim, após centrifugação, 200 μl dos sobrenadantes foram cuidadosamente retirados e submetidos à leitura a 535 nm. Os valores de TBARS foram expressos em ηmols de malondialdeído (MDA) por mg de proteína.

4.5.3. Análise das enzimas antioxidantes

A determinação da atividade catalítica da Superóxido Dismutase (SOD) foi realizada pelo método do pirogalol baseado na capacidade da enzima de catalisar a reação do superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio, de acordo com Sarban e colaboradores (2005). Para isso, 30 μ l de amostra foram adicionadas a 99 μ l de tampão fosfato (0,1M pH 7,0), 6 μ l de MTT (1,25 mm) e 15 μ l de pirogalol (100 μ M) em placa de 96 poços e incubados durante 5 minutos a 37°C. O padrão e o branco foram feitos da mesma maneira, porém para ambos sem amostra e utilizando 129 μ l e 144 μ l de tampão, respectivamente. No branco não foi adicionado pirogalol. Após a incubação, foi estabelecida a reação com 150 μ l de DMSO (1,25 mm) e as amostras foram submetidas à leitura a 570 nm em leitor de placas (Thermo ScientificMultiskan™ GO). A atividade enzimática foi expressa em Unidades de SOD por mg de proteína.

Para determinar a atividade enzimática da Glutationa S-transferase (GST) no soro dos voluntários foi realizada a quantificação do produto formado a partir da complexação de glutatona reduzida (GSH) com 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) de acordo com o método descrito por Habig e colaboradores (1974) e foi calculada pela taxa de oxidação de NADPH. Dessa forma, em uma cubeta de Quartzo, foram pipetados 682 μ l de tampão Fosfato (0,1 M e pH 7,0) juntamente com 6 μ l de CDNB (0,1 M), 6 μ l de amostra e 6 μ l de solução de GSH (0,1 M) e a taxa de reação da enzima presente nas amostras será monitorada a 340 nm em espectrofotômetro, durante 90 segundos, para acompanhamento da cinética enzimática. Foi realizado também um branco para o experimento, o qual não possui adição da amostra e foi utilizado para verificar a taxa de reações não-enzimáticas. A atividade enzimática foi expressa em μ mol min⁻¹ g⁻¹, onde 1 unidade de atividade representa a quantidade de enzima que catalisa a formação de 1 μ mol de produto por minuto e por grama de amostra, nas condições do ensaio.

A atividade enzimática da Catalase (CAT) foi avaliada medindo a cinética de decomposição de H₂O₂, de acordo com Aebi (1984). Para isso, 6 μ L de amostra juntamente com 600 μ L de tampão Fosfato (0,1 M e pH 7,0) foram utilizados como branco para cada amostra enquanto que, para leitura, o tampão Fosfato foi acrescido de H₂O₂ (30%). Dessa forma, em uma cubeta de Quartzo, as amostras foram submetidas à leitura a 240 nm em espectrofotômetro, durante 60 segundos,

para acompanhamento da cinética enzimática. A atividade enzimática foi expressa em Unidades de Catalase por mg de proteína.

4.6. Análise estatística

As variáveis numéricas analisadas foram submetidas a teste de normalidade (Shapiro-Wilk). Posteriormente foi realizado teste T e seus resultados expressos em média \pm desvio padrão. Para as variáveis que não apresentaram normalidade foi realizado o teste não paramétrico de Man Whitney e seus resultados foram expressos em mediana \pm intervalo interquartil. A análise de correlação entre as variáveis foi realizada através do teste de Pearson. A associação entre variáveis foi determinada utilizando o teste Qui-quadrado.

O tratamento estatístico foi realizado através do programa GraphPad Prism 7.0 program (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA) e a significância estatística foi considerada quando $<0,05$.

4.7. Construção do Podcast

Como Produto Técnico deste estudo foi elaborado um Podcast intitulado “Rinite Alérgica – Fisiopatologia, Stress oxidativo e manejo clínico”, organizado em uma introdução e três capítulos. Estruturado a partir da literatura científica recente, em linguagem acessível e dirigido a estudantes de medicina, médicos que atuam nas áreas de medicina de saúde da família e comunidade, clínica médica e demais especialistas. Seu objetivo é revisar e/ou atualizar conhecimentos concernentes ao manejo clínico e fisiopatologia da rinite alérgica, com introdução de conceitos sobre estresse oxidativo. Disponível na plataforma Spotify® através do link: <https://open.spotify.com/show/006P4NquG2QbgiDfGxAKMr>.

5. RESULTADOS

5.1. Artigo científico

Avaliação do Perfil Oxidativo na Rinite Alérgica relacionada à classificação clínica: estudo transversal.

Oxidative Profile evaluation in Allergic Rhinitis related to it's clinical classification: a cross-sectional study

Evaluación del Perfil Oxidativo en Rinitis Alérgica relacionada con su clasificación clínica: un estudio transversal

Alex Pinheiro Simiqueli de Faria¹, Tiago Ricardo Moreira², Leandro Licursi de Oliveira³, Sílvia Almeida Cardoso^{4*}

RESUMO

Objetivo: Analisar o perfil oxidativo de pacientes portadores de Rinite Alérgica Persistente, relacionando a sua classificação clínica (leve ou moderada-severa). **Métodos:** Trata-se de um estudo do tipo transversal, com coleta de dados entre 09/2021 e 02/2022. Após a estratificação clínica de pacientes previamente diagnosticados foi realizada uma coleta de sangue para determinação dos parâmetros hematológicos e bem como para avaliação espectrofotométrica dos marcadores relacionados ao perfil oxidativo. **Resultados:** Os dois grupos avaliados apresentaram predomínio do sexo feminino, média etária de aproximadamente 30 anos e relataram fazer uso de automedicação. Não foi observado diferença significativa na capacidade antioxidante total entre os grupos avaliados, entretanto os níveis de atividade da enzima antioxidante Catalase se apresentaram significativamente reduzidos no grupo com rinite moderada-severa ($91,2 \pm 90,5$ vs. $148,5 \pm 111,3$ $\mu\text{m/L}$; $p=0,048$), interessante observamos correlação positiva entre os níveis de catalase com proteínas carboniladas ($r=0,437$ e $p=0,0253$) e de catalase com índice de massa corporal ($r=0,4109$ e $p=0,037$) apenas neste grupo. **Conclusão:** Nossos dados demonstram que os pacientes com quadros mais graves de rinite alérgica apresentam maiores alterações dos marcadores oxidativos, que se correlacionam positivamente com fatores de risco de agravo do referido quadro.

Palavras-chave: Rinite Alérgica, Estresse Oxidativo, Antioxidantes

ABSTRACT

Objective: To analyze the oxidative profile of patients with Persistent Allergic Rhinitis, relating to their clinical classification (mild or moderate-severe). **Methods:** This is a cross-sectional study, with data

1 Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG. *E-mail: silvia.cardoso@ufv.br

collection performed between 09/2021 and 02/2022. After clinical stratification of previously diagnosed patients, blood samples were collected to determine hematological parameters and spectrophotometric evaluation of oxidative profile-related markers. Results: the two evaluated groups showed a predominance of females with a mean age of approximately 30 years and reported self-medication. There was no significant difference between the total antioxidant capacity of the evaluated groups. However, the activity levels of the antioxidant enzyme catalase were significantly reduced in the group with moderate-severe rhinitis (91.2 + 90.5 vs. 148.5 + 111, 3 $\mu\text{m/L}$; $p=0.048$). Interestingly, we observed a positive correlation between catalase levels and carbonylated proteins ($r=0.437$ and $p=0.0253$) and catalase and body mass index ($r=0.4109$ and $p=0.037$) only in this group. Conclusion: our data demonstrate that patients with more severe conditions of allergic rhinitis have more significant alterations in oxidative markers, which are positively correlated with risk factors for that condition worsening.

Keywords: Allergic Rhinitis, Oxidative Stress, Antioxidants

RESUMEN

Objetivo: Analizar el perfil oxidativo de pacientes con Rinitis Alérgica Persistente, en relación con su clasificación clínica (leve o moderada-grave). **Métodos:** Este es un estudio transversal, con recolección de datos entre 09/2021 y 02/2022. Después de la estratificación clínica de pacientes previamente diagnosticados, se realizó una extracción de sangre para la determinación de parámetros hematológicos y para la evaluación espectrofotométrica de marcadores relacionados con el perfil oxidativo. **Resultados:** Los dos grupos evaluados mostraron un predominio del sexo femenino, edad media de aproximadamente 30 años e informaron que se automedicaban. No se observaron diferencias significativas en la capacidad antioxidante total entre los grupos evaluados, sin embargo, los niveles de actividad de la enzima antioxidante catalasa se redujeron significativamente en el grupo con rinitis moderado-grave (91,2 + 90,5 vs. 148,5 + 111,3 $\mu\text{m/L}$; $p=0,048$), curiosamente observamos una correlación positiva entre los niveles de catalasa con proteínas carbonilo ($r=0,437$ y $p=0,0253$) y catalasa con índice de masa corporal ($r=0,4109$ y $p=0,037$) solo en este grupo. **Conclusión:** Nuestros datos demuestran que los pacientes con más rinitis alérgica grave tienen mayores cambios en los marcadores oxidativos, que son correlacionó positivamente con los factores de riesgo para el agravamiento de la condición antes mencionada.

Palabras clave: Rinitis Alérgica, Estrés Oxidativo, Antioxidantes

INTRODUÇÃO

A rinite alérgica (RA) é uma patologia extremamente frequente, cuja prevalência global tem aumentado nos últimos anos. Além dos prejuízos relativos à qualidade de vida, possui impacto negativo sobre o desempenho laboral e escolar dos indivíduos afetados, destacando-se também por acarretar grande dispêndio econômico ((BROŽEK et al., 2017; KESWANI; PETERS, 2016; MEHUYS et al., 2014; NACLERIO et al., 2020; SAVOURÉ et al., 2022; WAKAMIYA et al., 2022). Seu diagnóstico é basicamente clínico, com a presença de sintomas cardinais: espirros, prurido, coriza e

obstrução nasal. Achados laboratoriais como a identificação do alérgeno desencadeante pelo teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (*Prick Test*) e/ou dosagem de IgE específica corroboram com a suspeita clínica (BROŽEK et al., 2017; SAKANO et al., 2018).

Assim como na asma, a fisiopatologia da RA está relacionada com a exposição do indivíduo atópico à antígenos ambientais que serão apresentados pelas células dendríticas aos linfócitos T CD4. Esses respondem com liberação de citocinas de padrão Th2, o que leva a produção de IgE específica contra o antígeno em questão, que interagem com a superfície de mastócitos e basófilos. Em exposições subsequentes, o antígeno se liga diretamente à IgE na superfície das células anteriormente mencionadas, levando à liberação de mediadores químicos responsáveis pelo aparecimento dos sintomas (HAN et al., 2021; NACLERIO et al., 2020; SAKANO et al., 2018).

A participação do estresse oxidativo na fisiopatologia inflamatória da RA vem sendo estabelecida, uma vez que o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio pelas células epiteliais e inflamatórias extrapola a capacidade antioxidante, amplificando a quebra das junções intercelulares da barreira epitelial. Isso aumenta a permeabilidade aos antígenos inalados, levando tanto à amplificação quanto a perpetuação do processo inflamatório alérgico (CELIK et al., 2012; EMIN et al., 2012; HAN et al., 2021; SAKANO et al., 2018).

Embora existam estudos bem desenhados abordando a participação das forças oxidantes e antioxidantes na RA, eles contemplam em sua maioria a população pediátrica. Existe, portanto, um hiato de informação a respeito da população adulta. Diante ao exposto o objetivo do presente estudo é analisar o perfil oxidativo de pacientes portadores de RA persistente, relacionando a sua classificação clínica (leve ou moderada-severa).

MÉTODOS

Delineamento do estudo

Após a autorização do Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 46764021.8.0000.5153) foi conduzido o estudo do tipo transversal, com coleta de dados realizada durante o período de setembro de 2021 a fevereiro de 2022.

Foram selecionados por conveniência 51 pacientes portadores de RA persistente, com idade entre 18 e 40 anos e que apresentassem positividade para o Teste Alérgico cutâneo (*Prick test*), em atendimento clínico em ambulatório de clínica médica da Universidade Federal de Viçosa e estratificados clinicamente em portadores de quadro leve (N=24) e portadores de quadro moderado-severo (N=27) conforme preconizado pela Organização Mundial de Alergia em sua iniciativa conhecida como ÁRIA (*Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma*) (BOUSQUET; VAN CAUWENBERGE; KHALTAEV, 2001).

Foram excluídas pessoas que possuíam outras doenças do espectro atópico (asma e/ou dermatite atópica) em atividade, as que faziam uso crônico ou que haviam usado corticoides a menos de dez dias, as que haviam usado anti-histamínicos orais há menos de 7 dias ou as que eram portadoras de comorbidades relevantes (doenças cardíacas, imunodeficiências, doenças neurológicas graves ou que prejudicassem a interlocução com o avaliador, neoplasias, pós-operatório recente, internação recente, pós doença aguda recente).

Foram então conduzidas consultas clínicas, onde coletou-se dados sociodemográficos e clínicos relacionados à classificação da RA com auxílio de instrumento estruturado.

Coleta de amostra biológica

Foram coletados dois tubos de sangue através de punção venosa periférica, para avaliação

automatizada dos parâmetros hematológicos e obtenção de soro utilizado nas outras análises.

Análise do perfil oxidativo

O perfil oxidativo sérico dos participantes (capacidade antioxidante total, marcadores de dano oxidativo e das enzimas antioxidantes) foi definido através de dosagens espectrofotométricas séricas.

Inicialmente foi realizada uma quantificação proteica pelo método descrito por Bradford (1976) utilizando albumina de soro bovino como padrão (BSA), com leitura posteriormente realizada em leitor de placas (Thermo Scientific-Multiskan GO), cujo intuito foi o de normalizar as amostras coletadas. O óxido nítrico foi indiretamente mensurado estimando a concentração de nitrito no soro dos voluntários pelo método de Griess (1879). Neste método, o nitrito, usado como indicador da síntese de óxido nítrico, foi detectado pelo Reativo de Griess. A concentração do óxido nítrico foi mensurada utilizando curva padrão com concentrações conhecidas (μM) de nitrito de sódio.

Capacidade antioxidante total

A dosagem sérica da capacidade antioxidante total foi baseada no método da capacidade de redução férrica (FRAP), com as seguintes modificações: 10 μL de amostra/padrão foram adicionados a 220 μL de solução FRAP em microplacas de poliestireno e incubadas no escuro por 30 minutos. Como agente oxidante foi utilizada solução de Trolox. As leituras foram realizadas em leitor de placas (Thermo Scientific-Multiskan GO) em comprimento de onda 570 nm e as concentrações relativas às amostras foram obtidas a partir da curva padrão, sendo os resultados expressos em μM .

Análise dos marcadores de dano oxidativo

A concentração de proteínas carboniladas no soro foram determinadas de acordo com a metodologia de Levine e colaboradores (1990). A leitura foi realizada em leitor de placas (Thermo Scientific-MultiskanTM GO). O conteúdo de proteínas carboniladas foi expresso em ηmol de proteínas carboniladas por ml de amostra.

A peroxidação lipídica (TBARS) foi avaliada para quantificar os produtos provenientes da peroxidação lipídica (peróxidos lipídicos, malondialdeídos e demais aldeídos de baixo peso molecular). As amostras de soro foram submetidas à reação com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com a metodologia de Buege e Aust (1978). Os valores de TBARS foram expressos em ηmols de malondialdeído (MDA) por mg de proteína.

Análise das enzimas antioxidantes

A determinação da atividade catalítica da Superóxido Dismutase (SOD) foi realizada pelo método do pirogalol baseado na capacidade da enzima de catalisar a reação do superóxido e peróxido de hidrogênio, de acordo com Sarban e colaboradores (2005). As amostras foram submetidas à leitura a 570 nm em leitor de placas (Thermo ScientificMultiskanTM GO) e a atividade enzimática foi expressa em Unidades de SOD por mg de proteína.

Para determinar a atividade enzimática da Glutationa S-transferase (GST) no soro dos participantes foi realizada a quantificação do produto formado a partir da complexação de glutatona reduzida (GSH) com 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) 11 de acordo com o método descrito por Habig e colaboradores (1974) e foi calculada pela taxa de oxidação de NADPH. A atividade enzimática foi expressa em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$, onde 1 unidade de atividade representa a quantidade de enzima que catalisa a formação de 1 μmol de produto por minuto e por grama de amostra, nas condições do ensaio.

A atividade enzimática da Catalase (CAT) foi avaliada medindo a cinética de decomposição de peróxido de hidrogênio, de acordo com Aebi (1984). As amostras foram submetidas à leitura a 240 nm em espectrofotômetro, durante 60 segundos, para acompanhamento da cinética enzimática. A atividade enzimática foi expressa em Unidades de Catalase por mg de proteína.

Análise estatística

As variáveis numéricas analisadas foram submetidas a teste de normalidade (Shapiro-Wilk). Posteriormente foi realizado teste T e seus resultados expressos em média \pm desvio padrão. Para as variáveis que não apresentaram normalidade foi realizado o teste não paramétrico de Man Whitney e seus resultados foram expressos em mediana \pm intervalo interquartil. A análise de correlação entre as variáveis foi realizada através do teste de Pearson. A associação entre variáveis foi determinada utilizando o teste Qui-quadrado.

O tratamento estatístico foi realizado através do programa GraphPad Prism 7.0 program (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA) e a significância estatística foi considerada quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Foram selecionados 51 pacientes com RA persistente com idade entre 18 e 40 anos. Como observado na Tabela 1, entre os participantes do grupo com RA leve observa-se uma idade média de 28,8 anos, similar ao encontrado para o grupo moderada-severa que apresentou idade média de 30,3 anos. O número de participantes do sexo masculino que apresentam quadro leve foi semelhante aos com quadro moderado-severo (8 vs 10, respectivamente), bem como para os pacientes do sexo feminino (16 vs 17).

Entre os participantes portadores de RA leve observa-se mediana do índice de massa corporal (IMC) de 26,1, semelhante ao observado para o grupo moderada-severa que apresentou mediana de 23.

Entre os participantes que têm grau de escolaridade fundamental e médio, observa-se número semelhante de portadores de RA leve e moderada-severa (5 e 3, respectivamente). Isso também é observado entre os com grau de escolaridade superior (19 e 24).

Também não foi observado diferença significativa no número de pacientes que se automedicam com quadro de RA leve em relação aos pacientes com quadros moderado-severo (12 vs 8) respectivamente.

Dentre os participantes do estudo, apenas 01 participante dentre os 27 voluntários do grupo com RA moderado-severo se declarou tabagista.

Na avaliação hematológica, observou-se que os pacientes com quadro leve apresentaram níveis significativamente menores de eritrócitos e hemoglobina ($4,56 \pm 0,47$ vs. $4,9 \pm 0,61$ milhões/mm³; $p=0,035$ e $13,87 \pm 1,36$ vs. $14,5 \pm 1,27$ g/dL; $p=0,009$), embora não tenha sido observado quantificações inferiores aos valores de referência para esses parâmetros hematológicos.

Quando estratificados de acordo com o sexo, em ambos os grupos avaliados, observamos que os valores referentes à contagem de eritrócitos ($4,40$ vs $5,19$ $p=0,000$) e hemoglobina (13 vs $15,63$ $p=0,000$), são significativamente menores dentre as mulheres quando comparado aos homens (dados não mostrados).

Tabela 1: Características demográficas, clínicas e laboratoriais dos participantes do estudo quanto a classificação da rinite alérgica, n=51.

Variáveis	Classificação da rinite		p-valor
	Leve	Moderada-severa	

Idade ^a	28,8 (9,6)	30,3 (5,3)	0,879
Sexo ^c			
Masculino	8 (44,4)	10 (55,6)	0,78
Feminino	16 (48,5)	17 (51,5)	
IMC ^b	26,1 (23,1-30,6)	23 (20,9-29)	0,085
Escolaridade ^c			
Fundamental e médio	5 (62,5)	3 (37,5)	0,345
Superior	19 (44,2)	24 (55,8)	
Hábito de automedicação			
Sim	12 (38,7)	19 (61,3)	0,146
Não	12 (60)	8 (40)	
Tabagismo ^c			
Sim	0 (0)	1 (100)	0,345
Não	24 (48)	26 (52)	
Eritrócitos ^a (milhões/mm ³)	4,56 (0,47)	4,9 (0,61)	0,035*
Hemoglobina ^a (g/dL)	13,87 (1,36)	14,5 (1,27)	0,009*
Hematócrito % ^a	40,7 (3,99)	42,9 (3,91)	0,054
VCM ^b (fL)	88,9 (87,5 – 92)	88,7 (86 – 95)	0,41
Leucócitos ^a (/mm ³)	6880 (1710)	6247 (1614)	0,179
Neutrófilos% ^a	54,3 (9,63)	53,7 (8,19)	0,813
Linfócitos% ^a	33,25 (8,65)	32,44 (7,52)	0,723
Eosinófilos ^a (/mm ³)	213,8 (140,6)	276,8 (210,9)	0,221
Monócitos ^a (%)	7,6 (2,16)	8,33 (2,48)	0,313
Plaquetas x 10 ^{3a}	297,1 (46,3)	299,5 (76,3)	0,896
Relação Neutrófilos-Linfócitos ^b	1,71 (1,21-2,23)	1,80 (1,22-2,10)	0,954

Observações: a=Teste T, média (desvio padrão); b= Teste de Mann-Whitney, mediana (intervalo interquartilico); C= N (%); IMC= Índice de massa corporal. Valores de referência utilizados para as variáveis hematológicas: Eritrócitos – 4 a 5 milhõs/mm³; Hemoglobina – 12,0 a 16,0 g/dL; Hematócrito – 36 a 46%; VCM - 80 a 100fL; Leucócitos - 4.500 a 11.000/mm³; Neutrófilos – 1.800 a 7.000/mm³; Linfócitos – 1.000 a 5.000/mm³; Eosinófilos – até 500/mm³; Monócitos – 80 a 1.200/mm³; Plaquetas – 150x10³ a 450x10³.

Como observado na tabela 2, a maioria dos participantes recorre a mais de uma categoria de medicamentos para controle dos sintomas, sendo os anti-histamínicos de segunda geração e os descongestionantes nasais os mais utilizados. Embora não tenha sido observado diferença estatisticamente significativa quanto às classes de medicamentos utilizadas entre os dois grupos avaliados, a chance de se automedicar mais de uma vez por semana foi 16 vezes maior nos pacientes com rinite moderada-severa do que nos pacientes com quadro leve (p=0,001).

Tabela 2: Características de pacientes que se automedicam relacionadas à classificação da rinite, n=31.

Variáveis	Classificação da rinite		p-valor
	Leve	Moderada-severa	
Frequência de automedicação ^a			
1 ou mais vezes por semana	3 (15,8)	16 (84,2)	0,001
Menos de 1 vez por semana	9 (75)	3 (25)	
Medicamentos utilizados ^a			

Anti-histamínicos de 1ª geração	1 (33,4)	2 (66,6)
Anti-histamínicos de 2ª geração	6 (54,5)	5 (45,5)
Corticóides nasais	0 (0)	0 (0)
Corticóides sistêmicos	1 (100)	0 (0)
Descongestionantes nasais	0 (0)	4 (100)
Descongestionantes sistêmicos	0 (0)	0 (0)
Mais de uma categoria	4 (33,4)	8 (66,6)

a = N (%)

Fonte: Faria APS, et al., 2022.

Para avaliação do Perfil Oxidativo, foi determinada inicialmente a capacidade antioxidante total, por redução férrica (FRAP). Não houve diferença significativa entre os valores obtidos para os dois grupos (Figura 1).

Na avaliação da atividade enzimática antioxidante observou-se redução significativa de níveis séricos de Catalase em pacientes com rinite moderada-severa ($91,2 \pm 90,5$ vs. $148,5 \pm 111,3$ $\mu\text{m/L}$; $p=0,048$) quando comparados aos com quadro leve (Figura 1B). Não houve diferenças significativas relativas às análises de GTS e SOD (Figura 1C e D respectivamente).

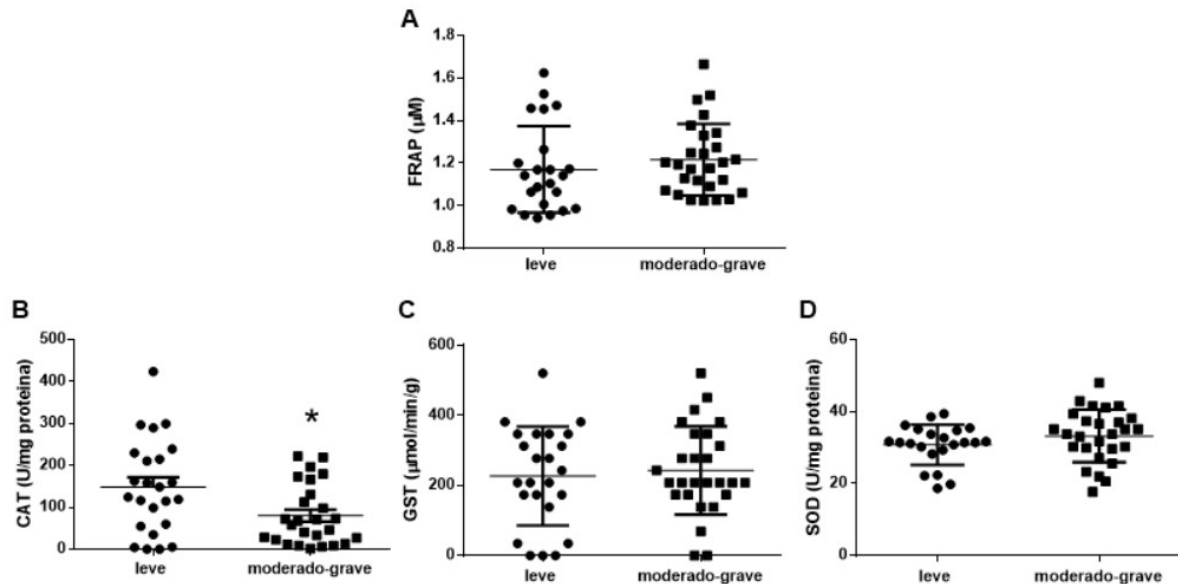


Figura 1: Avaliação do perfil antioxidante. (A) Capacidade antioxidante total através de redução férrica (FRAP); (B) atividade da enzima Catalase (CAT); (C) atividade da enzima Glutathione-S-transferase (GST) e (D) atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD). * $p \leq 0,05$.

Fonte: Faria APS, et al., 2022.

Quanto aos marcadores relacionados ao dano oxidativo, proteínas carboniladas e MDA (Figura 2A e B respectivamente), assim como a dosagem de óxido nítrico (NO_2^-) (Figura 2C), não houve diferenças significativas entre as dosagens dos dois grupos avaliados.

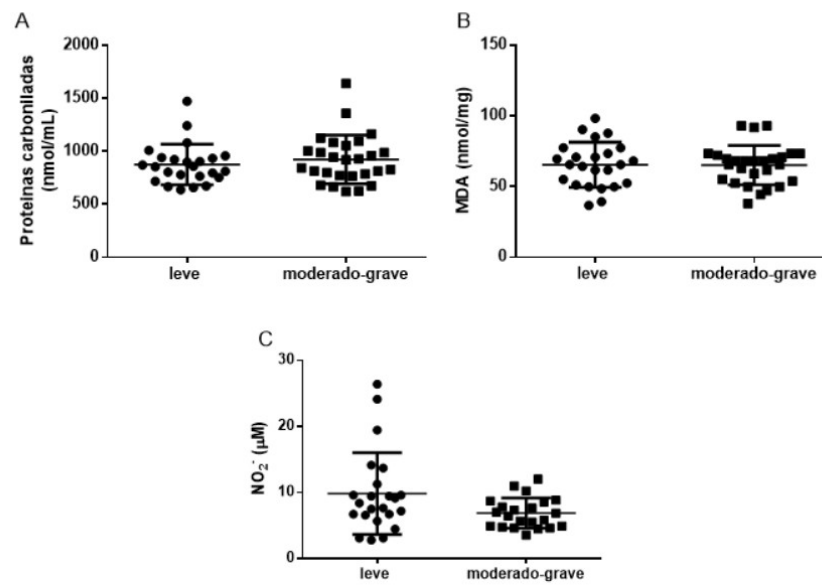


Figura 2: Quantificação de marcadores relacionados ao dano oxidativo. (A) proteínas carboniladas; (B) peroxidação lipídica (MDA) e produção de óxido nítrico (NO₂⁻).
Fonte: Faria APS, et al., 2022.

Ao se analisar a existência de correlação entre as variáveis descritas anteriormente, observa-se correlação positiva entre os níveis de catalase e os de proteínas carboniladas nos indivíduos com quadro moderado-severo ($r=0,437$ e $p=0,0253$), entretanto tal correlação não foi evidenciada no grupo com quadro leve (Figura 3A e B respectivamente). No grupo portador de quadro moderado-severo, também é observada correlação positiva entre níveis de catalase e IMC ($r=0,4109$ e $p=0,037$), sendo que essa correlação não foi estabelecida no grupo portador de doença leve (Figura 3C e D respectivamente).

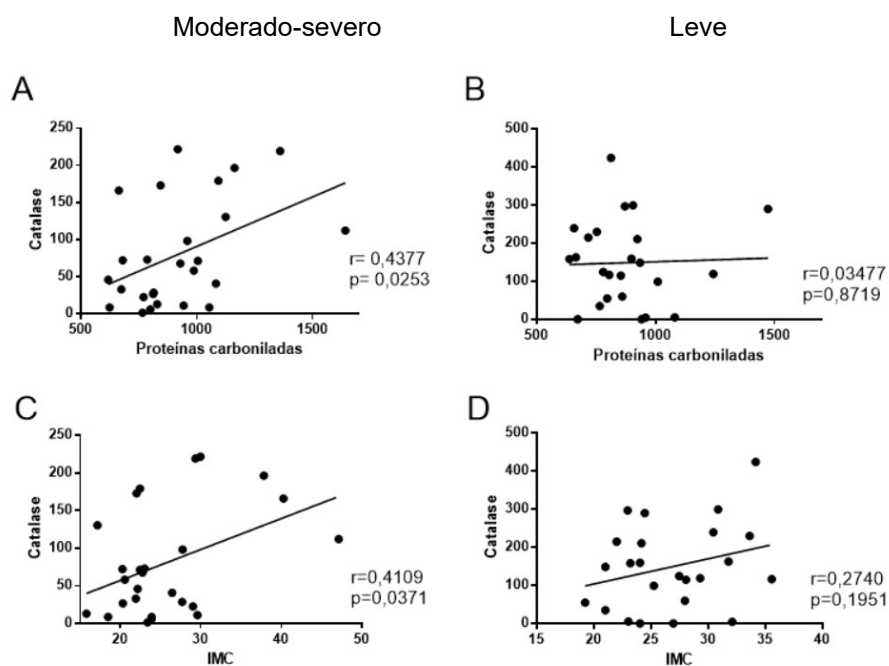


Figura 3: Dispersão e correlação de Pearson (r). Correlação estabelecida entre as quantificações da atividade da enzima Catalase e as quantificações de proteínas carboniladas, para o grupo de pacientes com RA moderada-grave (A) e leve (B) e entre as quantificações da atividade da enzima Catalase e o índice de massa corporal, para o grupo de pacientes com RA moderada-grave (C) e leve (D).

Fonte: Faria APS, et al., 2022.

DISCUSSÃO

A RA é um problema de saúde com prevalência significativa na população adulta global. Acometendo aproximadamente 30% da população nos países ocidentais, especificamente no continente americano foi verificado uma variação de prevalência da RA entre 3,5% e 55% (HAN *et al.*, 2021; SAVOURÉ *et al.*, 2022). No Brasil estudos populacionais foram direcionados para a faixa etária pediátrica relatando uma prevalência de 12,8% entre crianças de 6-7 anos de idade e 18% entre adolescentes de 13-14 anos, existindo ainda um hiato de informação sobre sua prevalência na população adulta (SAKANO *et al.*, 2018). Por se tratar de uma doença crônica a RA impacta negativamente na qualidade de vida dos pacientes, estando relacionada também a complicações como distúrbios do sono, do aprendizado, asma, rinossinusite crônica, DPOC e otite média (KESWANI; PETERS, 2016); além de representar custos socioeconômicos. Somente nos Estados Unidos estima-se um gasto de aproximadamente 2 a 5 bilhões de dólares anuais, relacionados ao impacto da RA (SAVOURÉ *et al.*, 2022).

Considerando a alta prevalência, o impacto na saúde e bem como os altos custos relacionados à RA, entendemos que o aprofundamento dos estudos sobre a fisiopatologia da RA é fundamental para um manejo mais adequado da referida condição. Dentre os fatores que se relacionam à fisiopatologia da RA, destaca-se o estresse oxidativo, que é definido como o desequilíbrio entre as forças oxidantes e os mecanismos antioxidantes celulares. Tem relação estabelecida com sensibilização alérgica e conseqüente desenvolvimento de doenças atópicas como a RA e a asma, além de contribuir com a persistência do processo inflamatório alérgico (MOON *et al.*, 2021; VAN RIJT *et al.*, 2017; WEI CHOO *et al.*, 2021). A literatura ainda é insipiente em estudos que abordam o perfil oxidativo de adultos com RA.

No presente estudo avaliamos o perfil oxidativo de adultos portadores de RA persistente, clinicamente classificados em RA leve ou RA moderada a severa. Em concordância com a literatura científica, podemos observar uma maior prevalência de pacientes do sexo feminino com RA nos dois grupos avaliados. Assim como observado em publicações anteriores, não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos estudados no que se refere à idade, e ao IMC. Também não observamos diferença significativa entre os dois grupos, em relação à escolaridade, uso de tabaco e automedicação (EMIN *et al.*, 2012; SIM *et al.*, 2015; WEI CHOO *et al.*, 2021).

O percentual de indivíduos com RA leve e com RA moderada-severa que recorrem à automedicação foi de 40 e 60% (dado não mostrado), respectivamente, com chance 16 vezes maior de pacientes com quadros moderados-severos usarem medicamentos sem prescrição. A maioria dos participantes faz uso de mais de uma classe de medicamentos, com destaque aos anti-histamínicos de 2ª geração e os descongestionantes nasais como os mais utilizados. Tais dados corroboram com recente estudo Australiano (TAN *et al.*, 2018) que demonstrou prevalência elevada de automedicação (69,3%) entre clientes de farmácias da cidade de Sidney portadores de RA e com estudo publicado em 2014 (MEHUYS *et al.*, 2014), aonde a maior tendência de automedicação e elevada prevalência de uso de descongestionantes nasais foi observada entre portadores de quadro moderado-severo.

A avaliação hematológica dos participantes demonstrou que, embora não tenha sido observado valores que indiquem clinicamente a presença de anemia nos pacientes com RA leve, esses pacientes apresentaram dosagens significativamente menores de eritrócitos e hemoglobina do que os pacientes do grupo com RA moderada-severa. Interessantemente esses achados hematológicos são encontrados predominantemente em pacientes do sexo feminino (dado não mostrado). A redução de ferro metabolicamente ativo na circulação com redução de ferro sérico já foi observada em mulheres portadoras de rinite alérgica sem anemia em estudo anterior (PETJE *et al.*, 2021). Nossos resultados não demonstram diferença significativa, entre os dois grupos estudados, nos marcadores que definem inflamação como leucócitos e a razão neutrófilos/linfócitos, que é descrito como um marcador de severidade para a rinite alérgica (GÖKER *et al.*, 2019). Esse fato certamente se deve ao desenho experimental do presente estudo, que agrupa pacientes portadores de RA clinicamente classificados como moderados, com pacientes com quadros severos.

O perfil oxidativo de pacientes com RA persistente tem sido avaliado por diversos grupos científicos e estudos com a população na faixa etária pediátrica demonstram que, em comparação às crianças saudáveis, os pacientes com RA apresentam elevados níveis da capacidade oxidativa total e/ou marcadores de dano oxidativo em detrimento à uma redução significativa dos marcadores antioxidantes (CELIK *et al.*, 2012; EMIN *et al.*, 2012). Em nosso estudo, não evidenciamos diferença significativa ao compararmos indivíduos com rinite alérgica persistente leve com o grupo portador de quadro moderado-severo, na quantificação da atividade antioxidante sérica total (FRAP). Entretanto observamos um consumo estatisticamente significativo da atividade enzimática da catalase no grupo com quadro moderado-severo. A catalase é uma importante enzima antioxidante endógena que já foi descrita como um marcador que se eleva em portadores de RA em comparação à indivíduos saudáveis (PEREZ *et al.*, 1999).

Embora não tenha sido observado quantificação diferencial dos marcadores de dano relacionados com o estresse oxidativo e bem como do óxido nítrico, entre os dois grupos estudados, nossos dados sugerem que a redução da atividade antioxidante da enzima catalase se correlaciona diretamente com a gravidade da rinite, uma vez que além do grupos mais acometidos terem apresentado maior consumo de enzima a nível sérico, também foi determinada uma correlação positiva entre os níveis séricos de catalase com os níveis de Proteínas Carboniladas e do IMC de indivíduos apenas no grupo de pacientes portadores de RA persistente moderada-severa. Esses dados corroboram com achados recentes demonstrando a elevação na produção de espécies reativas de oxigênio em processos crônicos, como nas doenças atópicas e no sobrepeso/obesidade, e que resultam em aumento fisiológico da atividade antioxidante como uma resposta adaptativa (MOON *et al.*, 2021; PÉREZ-TORRES *et al.*, 2021).

Como limitação desse estudo, podemos apontar o reduzido número amostral, o que pode interferir em seu poder estatístico. Já como pontos fortes podemos citar que acrescenta informações sobre atividade oxidativa/antioxidante na rinite alérgica em adultos (o que foi muito pouco explorado pela literatura até o momento, havendo grande concentração de estudos na faixa etária pediátrica). Ainda destacamos a ação do perfil oxidativo de pacientes clinicamente estratificados pela classificação proposta pela World Allergy Organization (BOUSQUET; VAN CAUWENBERGE; KHALTAEV, 2001), que é universalmente aceita e utilizada na prática clínica da alergologia.

CONCLUSÃO

Até onde sabemos, nosso estudo é inovador ao analisar diferentes enzimas antioxidantes e ao mesmo tempo o status antioxidante total através da técnica de FRAP em pacientes com rinite alérgica persistente. E estabelece não haver diferenças no perfil oxidativo sérico entre pacientes com RA persistente leve e os com moderada-severa em adultos, abrindo a discussão sobre a importância da participação da catalase na fisiopatologia desta doença.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTO

Agradecemos à chefia da Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa (UFV) por permitir a realização desse estudo no estabelecimento e à equipe de seu laboratório de análises clínicas pelo apoio durante a coleta de material biológico dos participantes.

Agradecemos ainda ao Laboratório de Imunoglicobiologia do Departamento de Biologia Geral da UFV por ter abrigado as análises concernentes ao perfil oxidativo.

Foram utilizados recursos próprios para a realização do presente estudo.

VINCULAÇÃO ACADÊMICA

Este artigo é parte da dissertação de mestrado profissional de Alex Pinheiro Simiqueli de Faria pela Universidade Federal de Viçosa – UFV.

REFERÊNCIAS

1. BOUSQUET J, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 2001; 10.1067/mai.2001.118891.
2. BROŽEK JL, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines—2016 revision. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2017; 140(4): 950–958.
3. CELIK M, et al. Oxidative stress in the airways of children with asthma and allergic rhinitis. *Pediatric Allergy and Immunology*, 2012; 23(6): 556–561.
4. EMIN O, et al. Oxidative Stress in Children With Allergic Rhinitis Total Antioxidant Status and Oxidative Stress and Their Relationship to Total IgE Levels and Eosinophil Counts in Children With Allergic Rhinitis. *Journal of Investigational Allergology Clinical Immunology* 2012; 22: 188-192.
5. GÖKER AE, et al. The association of allergic rhinitis severity with neutrophil–lymphocyte and platelet–lymphocyte ratio in adults. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 2019; 276(12): 3383–3388.
6. HAN M, et al. Oxidative Stress and Antioxidant Pathway in Allergic Rhinitis. *Antioxidants*, 2021; 10.3390/antiox10081266.
7. KESWANI A, PETERS AT. Complications of Rhinitis. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 2016; 36(2): 359-366.
8. MEHUYS E, et al. Self-Medication in Persistent Rhinitis: Overuse of Decongestants in Half of the Patients. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 2014; 2(3): 313–319.
9. MOON H, et al. Personalized Medicine A Prospective Study on the Association between Oxidative Stress and Duration of Symptoms in Allergic Rhinitis. *Journal of Personalized Medicine*, 2021; 10.3390/jpm11121290.
10. NACLERIO R, et al. International expert consensus on the management of allergic rhinitis (AR) aggravated by air pollutants Impact of air pollution on patients with AR: Current knowledge and future strategies. *World Allergy Organization Journal*, 2020; 10.1016/j.waojou.2020.100106.
11. PEREZ C, et al. Antioxidant Enzymatic Activities in Human Blood Cells after an Allergic Reaction to Pollen or House Dust Mite. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 1999; 25(7): 103–109.
12. PÉREZ-TORRES I, et al. Oxidative Stress, Plant Natural Antioxidants, and Obesity. *International journal of molecular sciences*, 2021; 22(4): 1–26.
13. PETJE LM, et al. Functional iron-deficiency in women with allergic rhinitis is associated with

- symptoms after nasal provocation and lack of iron-sequestering microbes. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2021; 76(9): 2882-2886.
14. SAKANO E, et al. IV Brazilian Consensus on Rhinitis – an update on allergic rhinitis. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 2018; 84(1): 3–14.
 15. SAVOURÉ M, et al. Worldwide prevalence of rhinitis in adults: A review of definitions and temporal evolution. *Clinical and Translational Allergy*, 2022; e12130.
 16. SIM CS, et al. Oxidative stress in schoolchildren with allergic rhinitis: propensity score matching case-control study. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, 2015; 115(5): 391–395.
 17. TAN R, et al. Management of allergic rhinitis in the community pharmacy: Identifying the reasons behind medication self-selection. *Pharmacy Practice*, 2018; 10.18549/PharmPract.2018.03.1332.
 18. VAN RIJT LS, et al. Molecular Sciences Oxidative Stress: Promoter of Allergic Sensitization to Protease Allergens? *International Journal of Molecular Sciences*, 2017; 10.3390/ijms18061112.
 19. WAKAMIYA S, et al. Exploring Relationships Between Tweet Numbers and Over-the-counter Drug Sales for Allergic Rhinitis: Retrospective Analysis. *Journal of Medical Internet Research*, 2022; 6: e33941.
 20. WEI CHOO CY, et al. Oxidative stress is associated with atopic indices in relation to childhood rhinitis and asthma. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 2021; 54(3): 466–473.

5.2. Produto Técnico

Segue a transcrição do podcast intitulado “Rinite Alérgica – Fisiopatologia, Stress oxidativo e manejo clínico” apresentado como produto técnico.

5.2.1. Introdução

“Meu nome é Alex Pinheiro Simiqueli de Faria, sou médico Alergista e Imunologista, aluno de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Departamento de Medicina e Enfermagem da Universidade Federal de Viçosa.

Durante meu processo de pós-graduação estudei o Perfil Oxidativo de portadores de Rinite Alérgica. Meu interesse nesse assunto reside na necessidade de aprofundamento nos mecanismos fisiopatológicos dessa doença e também no fato de ser um assunto relativamente pouco explorado na literatura até o momento.

Como produto técnico dessa pesquisa trago para vocês esse Podcast, dirigido

inicialmente para estudantes de graduação, médicos que atuam em clínica médica, medicina de saúde da família e comunidade, além de especialistas com interesse em revisar e/ou atualizar conhecimentos.

Ele será dividido em 3 capítulos, onde abordo a Rinite Alérgica, sua interação com os mecanismos oxidativos/antioxidantes e finalmente a abordagem terapêutica.

Espero que lhes seja útil”.

5.2.2. Capítulo 1: Rinite Alérgica

“Neste 1º capítulo vou falar sobre a Rinite Alérgica, sua apresentação clínica, fisiopatologia e diagnóstico.

Rinite é um processo inflamatório da mucosa nasal. Pode ter diversas etiologias:

- Alérgica (participação de um antígeno que é inalado e deflagra a reação);
- Infeciosa (mais frequentemente causada por vírus e raramente causada por bactérias);
- Não alérgica/não infecciosa (grupo heterogêneo, formado por pacientes sem sinais de infecção e sem sinais sistêmicos de inflamação alérgica. Ex: rinite induzida por drogas, rinite do idoso, rinite hormonal, rinite da gestação, rinite ocupacional não alérgica, rinite gustatória e rinite idiopática)
- Rinite mista (expressão utilizada para pacientes com rinite crônica, com mais de um agente etiológico, conhecido ou não).

A rinite alérgica é uma patologia extremamente frequente e sua prevalência global tem aumentado nos últimos anos. Segundo levantamento publicado neste ano por Savouré e colaboradores, acomete aproximadamente 18,1% da população global. Especificamente no continente americano sua prevalência varia entre 3,5% e 55%.

Além dos prejuízos relativos à qualidade de vida, possui impacto negativo sobre o desempenho laboral e escolar dos indivíduos afetados, destacando-se também por acarretar grande dispêndio econômico. Somente nos EUA estima-se gasto de 2-5 milhões de dólares anuais.

Em sua apresentação clínica, observamos geralmente 4 sintomas principais: obstrução nasal, prurido, espirros e coriza.

Pode ser classificada quando a duração é persistente (quando a pessoa apresenta sintomas por mais de 4 dias por semanas e por mais de 4 semanas) e intermitente quando tem duração menor que o mencionado anteriormente.

Quanto a gravidade, pode ser classificada em Moderada-severa, quando são observados prejuízo do sono, das atividades diárias (esporte, lazer), das atividades laborativas (escola ou trabalho) e leve quando nenhum dos itens que eu mencionei anteriormente estão presentes.

E como se dá a Rinite Alérgica?

O antígeno atravessa a barreira mucosa nasal e é capturado pelas células dendríticas que apresentam o antígeno ao Linfócito T CD4. Esse linfócito libera citocinas de padrão TH2 (destaque para IL4, IL5, IL10 e IL13), que levam a uma expansão clonal de linfócitos B que produzem anticorpos de classe IgE específicos contra aquele antígeno (por exemplo: IgE específica contra o ácaro *Blomia tropicalis*).

Esses anticorpos IgE vão interagir com receptores de superfície de mastócitos e basófilos que estão presentes na própria mucosa nasal, que vão degranular e liberar assim mediadores químicos responsáveis pelo aparecimento dos sintomas.

Com relação ao diagnóstico, ele é eminentemente clínico, podendo ser confirmado por testes que comprovem a sensibilização alérgica, como o Teste alérgico de puntura (prick test), onde o investigador expõe o paciente ao antígeno, através de perfuração superficial (EPICUTÂNEA) da pele. Com isso, se o paciente é sensibilizado ocorre a formação de uma pápula. A outra forma utilizada é a dosagem de IgE específica no soro do paciente, método conhecido como Immunocap.

Finalizo assim nosso primeiro Capítulo. Não deixe de assistir o próximo, onde abordo o Stress Oxidativo e também sua participação na Rinite Alérgica. Até lá.”

5.2.3. Capítulo 2: Stress Oxidativo e a Rinite Alérgica

“Durante sua existência, todos os organismos aeróbicos estão constantemente sujeitos ao efeito oxidante dos metabólitos de oxigênio, produzidos durante o metabolismo aeróbico – que é um processo contínuo e fisiológico.

Essas substâncias, conhecidas como Espécies Reativas de Oxigênio, têm efeitos deletérios ao nosso organismo, como causar lesão à membrana celular gerando danos teciduais através do mecanismo de Peroxidação Lipídica (que é uma oxidação de lipídeos), desnaturar proteínas e também danificar ácidos nucleicos (podendo levar ao surgimento de lesões ou de câncer).

Quando a produção de espécies reativas de oxigênio ultrapassa a capacidade dos antioxidantes em conter sua ação, temos o que é chamado *Stress Oxidativo*, que vem sendo relacionado à diversas patologias, como: doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, doenças inflamatórias (como asma, rinite e doenças autoimunes) e também de câncer.

As principais espécies reativas de oxigênio descritas são o Radical Superóxido, o Peróxido de Hidrogênio, Óxido Nítrico e o Radical Hidroxil.

Para conter os efeitos deletérios que esses oxidantes podem ter sobre o organismo, existe um sistema “protetor” antioxidante, composto por enzimas (Catalase, Superóxido dismutase, Glutathione Peroxidase) além de outras substâncias [posso citar aqui as vitaminas A, C e E, Zinco, Cobre, Manganês e Selênio, ácido úrico, carotenóides (pigmentos vermelho, alaranjado ou amarelado naturalmente presentes em raízes, folhas, sementes, frutas) e os flavonóides (provenientes de alimentos de cor escura), entre outros].

E qual seria participação do Stress oxidativo na Rinite Alérgica?

Bom, essa participação vem sendo estudada nos últimos anos, com alguns trabalhos publicados que compararam o Perfil Oxidativo de indivíduos saudáveis com aqueles portadores de rinite evidenciando aumento de marcadores de dano oxidativo e depleção de antioxidantes nesse grupo.

O aumento da produção de espécies reativas de oxigênio pelas células epiteliais e inflamatórias extrapola, então, a capacidade antioxidante, amplificando a quebra das junções intercelulares da barreira epitelial. Isso acaba aumentando a permeabilidade aos antígenos inalados, levando tanto à amplificação quanto a

perpetuação do processo inflamatório alérgico.

Na minha pesquisa de mestrado, estudamos o Perfil Oxidativo de pessoas entre 18 e 40 anos de idade, portadores de Rinite Alérgica Persistente, realizando uma comparação entre 2 grupos: aquele de pessoas com quadros leves e os com quadro moderado-severo

Todos os participantes foram submetidos a uma avaliação clínica, onde foram colhidos dados demográficos e clínicos, sendo que nesse mesmo momento foi realizado o Teste Cutâneo de Puntura (Prick Test) para confirmar se o quadro realmente podia ser atribuído a uma alergia.

Após essa primeira etapa, os participantes foram encaminhados para coleta de sangue, onde foram dosadas a Capacidade Antioxidante Total, enzimas antioxidantes e marcadores de dano celular.

Ao todo foram incluídas 51 pessoas, em sua maioria do sexo feminino, com média de idade de aproximadamente 30 anos.

Não foi observado diferença significativa na capacidade antioxidante total entre os grupos avaliados, mas os níveis de atividade da enzima antioxidante Catalase se apresentaram significativamente reduzidos no grupo com rinite moderada-severa ($p=0,048$). É importante lembrar que a Catalase é uma importante enzima oxidante e nossos dados sugerem que seu consumo esteja relacionado à gravidade do quadro de rinite – quanto mais grave maior o consumo dessa enzima.

Interessantemente observamos correlação positiva entre os níveis de catalase com proteínas carboniladas ($p=0,0253$) e de catalase com índice de massa corpora ($p=0,037$) apenas neste grupo de pessoas com quadro moderado-severo. Esses dados corroboram achados anteriores de estudos recentes, onde se demonstra uma elevação de EROS em doenças crônicas, resultando em um aumento fisiológico da atividade antioxidante.

Conclusão: nossos dados demonstram que os pacientes com quadros mais graves de rinite alérgica apresentam maiores alterações dos marcadores oxidativos, que se correlacionam positivamente com fatores de risco para agravo da doença.

Finalizo assim nosso Segundo Capítulo. Não deixe de assistir o próximo, onde descrevo a abordagem terapêutica atual da Rinite Alérgica, além de novas

perspectivas no tocante ao Stress Oxidativo. Até lá”.

5.2.4. Capítulo 3: Abordagem Terapêutica atual e novas perspectivas

“Neste 3º capítulo vou falar sobre a abordagem terapêutica da Rinite Alérgica.

Quando estamos diante de um paciente com Rinite, 3 perguntas iniciais devem ser respondidas: seu quadro é intermitente ou persistente? Ele realmente tem etiologia alérgica? Qual (ou quais) são os antígenos envolvidos?

Expliquei no primeiro capítulo qual a diferença entre intermitente e persistente. A importância dessa classificação é o fato de que quadros intermitentes vão demandar geralmente o uso de medicamentos por períodos específicos (como inverno ou primavera), podendo ser suspenso em outras épocas.

Já no quadro persistente, existe necessidade de uso contínuo de medicamentos como corticoides tópicos nasais para se manter a resposta inflamatória sobre controle.

A segunda pergunta é se o quadro realmente tem etiologia alérgica. Podemos, como foi dito no capítulo 1, lançar mão do Prick Test (que é um exame de fácil realização e resultado disponível em apenas 15 a 20 minutos e de elevada sensibilidade e especificidade) e do Immunocap (que é um exame laboratorial aonde se dosa as IgE's séricas específicas).

Além de confirmarem que o quadro é alérgico, esses exames nos auxiliam a responder a 3ª pergunta: quais os antígenos envolvidos. Essa informação é extremamente importante na Alergologia, pois o médico a orientar o paciente sobre como se evita a exposição a esses antígenos e também torna possível tratamento de dessensibilização conhecido como Imunoterapia Antígeno Específica (a qual irei detalhar um pouco mais a frente).

Tanto para pacientes com quadro intermitente quanto persistente, no Brasil (com exceção de estados da região sul, aonde realmente a sensibilização aos pólenes é uma realidade), devemos ter em mente que a maioria dos pacientes têm sensibilização aos antígenos encontrados na poeira domiciliar. Entre os mais prevalentes, posso citar os dos ácaros *D. pteronyssinus*, *D. farinae* e *Blomia*

tropicalis.

Sendo assim, devemos primeiramente explicar a importância do “Controle ambiental” no tratamento da Rinite Alérgica.

No caso de sensibilização aos antígenos da poeira, limpeza diária do quarto de dormir através de varredura úmida ou utilizando aspirador com filtro hepa, troca de roupas de cama 2 vezes por semana e remoção de itens que possam acumular poeira (como livros, enfeites, cortinas de tecido, etc..) devem ser orientados.

A respeito do tratamento medicamentoso, é recomendado que se siga o que é preconizado atualmente pelo Consenso Ária da Organização Mundial de Alergia.

Baseado nesse documento, que sofre atualizações periódicas por um quadro de especialistas, atualmente podemos realizar uma abordagem escalonada (as recomendações que farei a seguir são relativas a pacientes adultos):

Para quadros intermitentes, geralmente recomenda-se uso de anti-histamínicos não sedativos (de 2ª geração – como fexofenadina, ebastina, levocetirizina. Devemos sempre preferi-los aos de 1ª geração, pois não tem efeito sedativo). Considerar uso de corticoides tópicos nasais caso o quadro seja sazonal e com desconforto mais frequente.

Nos quadros persistentes devemos utilizar corticoides tópicos nasais como base do tratamento e associar uso de anti-histamínicos de 2ª geração em caso de necessidade, com reavaliação em 2 a 4 semanas.

Caso não haja melhora, pode-se realizar um “step up” de tratamento, com associação de antileucotrieno (montelucaste) ou anti-histamínico tópico nasal (como a azelastina), com reavaliação posterior também em 2 a 4 semanas.

Caso não se consiga controle adequado, pode-se fazer uso concomitante de corticoide tópico nasal com Anti-histamínico tópico nasal e antileucotrieno, associando uso de Anti-histamínico oral em caso de necessidade.

Outra abordagem terapêutica muito empregada na Alergologia é a Imunoterapia Alérgeno-específica.

Ela vem sendo utilizada desde 1911 e seu objetivo é induzir dessensibilização e tolerância imunológica ao agente causador de um quadro alérgico IgE mediado,

como alergia a veneno de insetos, asma e também rinite alérgica.

Embora seja reconhecida como o único tratamento com potencial curativo, reduzindo a necessidade de uso de medicamentos e levando ao controle de sintomas a longo prazo, é um tratamento pouco conhecido inclusive por médicos (o que pode ser justificado pela priorização do ensino de imunologia básica durante a graduação de medicina, abordando-se a imunologia clínica de uma forma muito insipiente).

Na Imunoterapia alérgeno específica o Alergologista administra de forma sublingual ou subcutânea o antígeno que sensibiliza o paciente, de forma sublingual ou subcutânea, levando à diferenciação de linfócitos CD4 em células T Reguladoras (também conhecidas como Linfócitos TREG). Essas células liberam citocinas capazes tanto de reduzir a resposta inflamatória alérgica quanto induzir a mudança de padrão daquele indivíduo de TH2 para TH1, e com isso tolerância ao antígeno em questão e pode ser empregada para pacientes entre 4 e 75 anos de idade.

Uma outra forma de abordagem terapêutica que vem sendo estudada é o emprego de substâncias antioxidantes no tratamento das doenças alérgicas.

Em alguns estudos, suplementação de antioxidantes alimentares como o SULFORAFANO (presente no brócolis e no repolho), RESVERATROL (presente nas uvas e no amendoim), MANGIFERINA (presente na manga), além do extrato de pimenta negra, da Quercetina (presente na cebola, vinho tinto e chá) e da Taurina (presente no atum e polvo) demonstraram ação na recuperação das junções intercelulares da membrana epitelial nasal, além de redução de níveis de marcadores de dano oxidativo, redução dos níveis de enzimas antioxidantes (o que infere redução do stress oxidativo), redução dos níveis de IgE total, de IL4, de eosinófilos e outras células inflamatórias, além da redução dos sintomas nasais.

Sendo assim, o uso de antioxidantes consiste em uma abordagem promissora, sendo necessários mais estudos para melhor compreensão e difusão do seu emprego na prática clínica.

Com isso eu concluo a programação desse nosso Podcast.

Gostaria de agradecer imensamente a minha orientadora, Prof^ª. Dra. Silvia Almeida Cardoso por todo o apoio durante essa minha etapa de pós-graduação, aos

meus coorientadores Prof. Dr. Thiago Ricardo Moreira, Prof. Dr. Leandro Licursi de Oliveira, Prof. Dr. Valter Araújo Feitosa e a todos os profissionais envolvidos no Programa de Pós-graduação em Saúde do Departamento de Medicina e Enfermagem da Universidade Federal de Viçosa.

Coloco-me à disposição através do e-mail alexfaria@ufv.br caso algum de vocês queira fazer contato”.

6. CONCLUSÃO

O estudo realizado inova, até onde sabemos, ao analisar enzimas antioxidantes diversas e simultaneamente a capacidade antioxidante total através da técnica de FRAP em pacientes com rinite alérgica persistente. Embora não tenha sido observado diferenças significativas na capacidade antioxidante sérica entre pacientes adultos com RA persistente leve e os com moderada-severa, nossos dados demonstram que os pacientes com quadros mais graves de rinite alérgica apresentam maiores alterações da ação da enzima catalase, que se correlaciona positivamente com fatores de risco de agravo do referido quadro. Fato que abre discussão sobre a importância da participação da ação antioxidante da catalase na fisiopatologia desta doença.

REFERÊNCIAS

AARESTRUP, Fernando Monteiro *et al.* Good clinical practice recommendations in allergen immunotherapy: Position paper of the Brazilian Association of Allergy and Immunology – ASBAI. **World Allergy Organization Journal**, v. 15, n.10, p. 1-13, 2022. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.waojou.2022.100697>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1939455122000734>. Acesso em 20 nov. 2022.

KAHVECI, Orhan Kemal *et al.* The Effect of Nasal Steroid and Antihistamine Use on Total Oxidative Stress and Antioxidant Status in the Treatment of Allergic Rhinitis. **American Journal of Rhinology & Allergy**, v. 35, n.1, p. 52–58, 2020.

AEBI, Hugo. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-Transferases: the first enzymatic in mercapturic acid formation. **The Journal of Biological Chemistry, Baltimore**, v. 249, n. 22, p. 7130-7139, 1974.

SARBAN, Sezgin *et al.* Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. **Clinical Biochemistry**, v. 38, p. 981–986, 2005.

LEVINE, Rodney *et al.* Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 464-478, 1990.

BUEGE, John A.; AUST, Steven D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978.

APÊNDICE 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: “PERFIL OXIDATIVO DE PACIENTES PORTADORES DE RINITE ALÉRGICA PERSISTENTE E SUA RELAÇÃO COM AUTOMEDICAÇÃO”. Neste estudo pretendemos determinar o perfil oxidativo de pacientes portadores de rinite alérgica persistente, através de uma coleta de sangue, e relacionar os dados obtidos com o hábito de automedicação.

Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: consulta médica inicial, aonde será realizado diagnóstico clínico da rinite alérgica, com classificação baseada nos sintomas apresentados, avaliação da presença do hábito de se automedicar e realização de teste alérgico cutâneo de puntura (Prick Test) para confirmação da alergia. Após isso, você será encaminhado(a) para o Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde da UFV (DSA-UFV) para realização de coleta de amostra de sangue venoso, na qual serão dosados os marcadores de estresse oxidativo.

Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em: 1) desconforto no local da aplicação do Prick Test, que é causado por uma microperfuração da pele realizada pelo pesquisador. Geralmente é seguido por uma sensação de coceira e aparecimento de pápulas (pequenas elevações na pele) caso o exame seja positivo. Tais acontecimentos são esperados, podem durar alguns minutos e tendem a desaparecer sem necessidade de uso de nenhum tipo de medicação, não acarretando maiores riscos. Caso seja necessário medicamentos (como antialérgicos e corticoides) para controle de reações estarão disponíveis para uso e o pesquisador, que é médico Alergista e Imunologista com 17 anos de experiência profissional e 9 anos nesta área, irá fornecer todo o suporte. Você será mantido(a) em observação até a resolução do quadro. 2) A punção venosa pode acarretar leve desconforto no local de realização, além de extravasamento de sangue no local da punção com formação de pequenas ecmozes. Essas têm curso benigno com resolução espontânea sem necessidade de intervenções. Para minimizar esse efeito é orientada compressão no local da punção venosa por período de 3 minutos após a coleta. Caso ocorra extravasamento em maior quantidade você será encaminhado(a) para avaliação pelo pesquisador. Também pode ocorrer tontura durante a coleta, geralmente atribuída a reação vaso-vagal causada por medo e/ou ansiedade. Se esses fatores forem detectados na consulta inicial, o pesquisador irá orientar que esse procedimento seja realizado em decúbito dorsal (deitado), minimizando esse tipo de desconforto. Caso ocorra em outras situações não identificadas, as cadeiras de coleta da DSA-UFV possuem mecanismo que permite serem reclinadas transformando-se em macas. Você irá permanecer em observação até que se sinta melhor. Se for necessário atendimento o pesquisador será acionado e, caso não esteja presente no momento, o atendimento será realizado por um dos médicos do corpo clínico da DSA-UFV (esse serviço possui profissionais qualificados, cujo menor grau de titulação é residência em Clínica Médica) e as devidas providências serão tomadas.

Raramente observa-se a ocorrência de inflamação da veia puncionada (flebite), cujo risco é minimizado pela adequada antisepsia do local da punção, rotina que já é adotada de praxe pelo laboratório da DSA. Caso mesmo assim ocorra, você será avaliado(a) e tratado(a) pelo pesquisador. Entende-se que o acesso a consulta médica especializada e realização dos exames propostos irão auxiliar na adequada condução do quadro alérgico do voluntário(a) e contribuir para a melhoria da sua qualidade de vida.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo além dos que já teria com a compra de medicamentos para tratamento do seu quadro, ou com a consulta realizada no consultório particular do pesquisador. Não receberá também qualquer vantagem financeira, mas apesar disso, diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa, que sejam identificados e comprovados, tem assegurado o direito à indenização. Você também tem garantida plena liberdade de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem necessidade de comunicado prévio. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido(a) pelo pesquisador. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada e você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar. Seu nome ou o material que indique sua participação não serão liberados sem a sua permissão.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você.

Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável, em seu consultório particular, por um período de dez anos após o término da pesquisa. Depois desse

tempo, os mesmos serão destruídos.

Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo e confidencialidade, atendendo à legislação brasileira, em especial, à Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, e utilizarão as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Eu, _____, telefone _____
e-mail _____, fui informado(a) dos objetivos da pesquisa “PERFIL OXIDATIVO DE PACIENTES PORTADORES DE RINITE ALÉRGICA PERSISTENTE E SUA RELAÇÃO COM AUTOMEDICAÇÃO” de maneira clara e detalhada, e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer minhas dúvidas.

Nome do pesquisador: Alex Pinheiro Simiqueli de Faria
Endereço: Rua Presidente Tancredo Neves 33/306, centro. Viçosa-MG. CEP: 36570-057
Telefone: (31)3891-4225
E-mail: alex_infecto@yahoo.com.br

Em caso de discordância ou irregularidades sob o aspecto ético desta pesquisa, você poderá consultar:

CEP/UFV – Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
Universidade Federal de Viçosa
Edifício Arthur Bernardes, piso inferior
Av. PH Rolfs, s/n – Campus Universitário
Cep: 36570-900 Viçosa/MG
Telefone: (31)3612-2316
E-mail: cep@ufv.br
www.cep.ufv.br

Viçosa, _____ de _____ de 20 ____.

Assinatura do Voluntário(a)

Assinatura do Pesquisador

APÊNDICE 2 – Instrumento de coleta de dados

Nº de identificação:	
Nome:	
E-mail:	Telefone: () -
Endereço:	
Dados Demográficos:	
Idade:	Data de Nascimento:
Sexo: () Masculino () Feminino	
Escolaridade: () Fundamental () Médio () Superior () Pós-graduação	
Dados Clínicos:	
Classificação da Rinite Alérgica: () Leve () Moderada-severa	
Automedicação: () sim () não	
Frequência: () diária () > diária < semanal Nº médio de dias por semana: () quinzenal () mensal () < que mensal	
Medicamentos utilizados: () anti-histamínicos H1 () anti-histamínicos H2 () corticoides nasais () corticoides sistêmicos () descongestionantes nasais () descongest. sistêmicos	
Tabagismo: () sim () não	
Prick Test (resultados em milímetros):	
Controle Positivo	Controle Negativo
<i>D. pteronyssinus</i>	<i>D. Farinae</i>
<i>B. tropicalis</i>	Fungos (mix)
Gramíneas	
Dados laboratoriais:	
Capacidade Antioxidante total:	µM
Nitrito de sódio:	µM
Proteínas carboniladas:	ηmol/mL
Peroxidação lipídica:	ηmols de MDA/mg de proteína
Atividade catalítica da SOD:	unid. SOD/mg de proteína
Atividade enzimática da GTS:	µmol min ⁻¹ g ⁻¹
Atividade enzimática da CAT:	unid. CAT/mg