

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**Atividade anti-inflamatória do infuso das folhas de
Eriobotrya japonica na artrite experimental.**

ÂNGELA MIDORI KURAOKA DE OLIVEIRA

**Dourados - MS
2020**

ÂNGELA MIDORI KURAOKA DE OLIVEIRA

Atividade anti-inflamatória do infuso das folhas de
Eriobotrya japonica na artrite experimental.

Área do CNPq: Medicina II

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cândida Aparecida Leite Kassuya
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Joyce Alencar Santos Radai

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

O48a Oliveira, Angela Midori Kuraoka De Atividade anti-inflamatória do infuso das folhas de Eriobotrya japonica na artrite experimental. [recurso eletrônico] / Angela Midori Kuraoka De Oliveira. -- 2020. Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Cândida Aparecida Leite Kassuya. Coorientadora: Joyce Alencar Santos Radai. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2020. Disponível no Repositório Institucional da UFGD em: <https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. E. japonica. 2. anti-inflamatório. 3. anti-hiperalgésico. 4. artrite. 5. nêspira. I. Kassuya, Cândida Aparecida Leite. II. Radai, Joyce Alencar Santos. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



UFGD

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO APRESENTADA POR ÂNGELA MIDORI KURAOKA DE OLIVEIRA, ALUNO(A) DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "FARMACOLOGIA".

Ao(s) décimo dia(s) do mês de março de 2020, as 09 horas, em sessão pública, realizou-se no Auditório da Faculdade de Ciências da Saúde – FCS, Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD II, a Defesa de Tese de Doutorado intitulada "Atividade anti-inflamatória do infuso das folhas de *Eriobotrya japônica* na artrite experimental" apresentada pelo(a) doutorando(a) ÂNGELA MIDORI KURAOKA DE OLIVEIRA, do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS DA SAÚDE à Banca Examinadora constituída pelos membros: Dr.^a Cândida Aparecia Leite Kassuya/UFGD (presidente/orientador), Dr. Fábio Juliano Negrão/UFGD (membro titular), Dr.^a Karimi Sater Gebara/UNIGRAN (membro titular), Dr.^a Claudia Andréia Lima Cardoso/UEMS (membro titular), Dr.^a Francielly Mourão Gasparotto/UFGD (membro titular), Dr. Marcio Eduardo de Barros/UFGD (membro suplente) e Dr.^a Juliana Loprete Cury/UNIGRAN (membro suplente). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer ao(a) candidato(a) e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após o(a) candidato(a) ter apresentado a sua Tese, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido o(a) candidato(a) considerado(a) aprovada, fazendo jus ao título de DOUTORO(A) EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dourados, 10 de março de 2020.

Dr.^a Cândida Aparecia Leite Kassuya

Dr. Fábio Juliano Negrão

(PARA USO EXCLUSIVO DA PROPP)

ATA HOMOLOGADA EM: ___/___/___, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA / UFGD.

Dr.^a Karimi Sater Gebara Karimi Sater Gebara
Dr.^a Claudia Andréia Lima Cardoso Claudia Andréia Lima Cardoso
Dr.^a Francielly Mourão Gasparotto Francielly Mourão Gasparotto

(PARA USO EXCLUSIVO DA PROPP)

ATA HOMOLOGADA EM: __/__/__, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA / UFGD.

Pró-Reitoria de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa
Assinatura e Carimbo

DEDICATÓRIA(S)

Dedico este trabalho aos meus pais: Osamu e Keiko Kuraoka e a minha família: Michael, Enzo, Maria Julia e Ana Clara, pelo seu amor, carinho, apoio e incentivo em todas as etapas deste processo.

AGRADECIMENTO(S)

Agradeço primeiramente a Deus que nos fortalece, inspira, direciona e nos concede a vida e a saúde necessária para que possamos realizar nossos projetos. “Porque Dele, por meio Dele, e para Ele são todas as coisas” (Rm. 11:36).

Aos meus amados pais, Osamu Kuraoka e Keiko Kuraoka, gratidão eterna pela vida, educação, inspiração, sustento, exemplo e amor concedido.

Ao meu amado esposo, Michael Araújo de Oliveira, pelo amor, compreensão, apoio e incentivo em todo momento.

Aos meus amados filhos, Alef Enzo Kuraoka de Oliveira, Maria Julia Kuraoka de Oliveira, Ana Clara Kuraoka de Oliveira, pela existência, carinho, amor e paciência.

À minha querida orientadora Profa Dra Cândida Aparecida Leite Kassuya, por ser minha inspiração em pesquisa e em humanidade. Para todos que a conhecem, é um exemplo de ética, profissionalismo, docência, responsabilidade e, acima de tudo, uma grande amiga.

À minha coorientadora Dra. Joyce A. S. Radai, por ter me acolhido e compartilhado seu conhecimento.

À Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, em especial ao coordenador do programa Prof Dr. Arquimedes Gasparotto Junior, pela grande oportunidade de realizar este projeto de vida e por fornecer todas as condições necessárias, e a todos os mestres do programa de pós-graduação *strictu sensu* em Ciências da Saúde.

Ao Centro Universitário da Grande Dourados, UNIGRAN, em especial à reitora Rosa Maria D’Amato De Dea, e aos mantenedores Murilo Zauith e Cecília Zauith pelo incentivo, apoio, compreensão, amizade, e por me conceder a honra de fazer parte desta família.

Aos professores que contribuíram com esta pesquisa Profa Dra Claudia A. L. Cardoso, Prof Dr. Saulo E. Silva Filho, Prof Me. Maicon M. Leitão.

Aos membros da banca de defesa e qualificação, Profa Dra Cândida A. L. Kassuya, Prof Dr Fábio J. Negrão, Profa Dra Karimi S. Gebara, Profa Dra Claudia A.L. Cardoso, Dra Francielly M. Gasparotto, Prof Dr. Marcio Barros, Profa Dra. Juliana L. Cury, Prof Dr. Saulo E. Silva Filho, Dra Aline L. de Barros por terem aceitado o convite e pela enorme contribuição com as correções deste trabalho.

A todos os amigos que conheci durante o programa por terem estado sempre disponíveis e terem contribuído em muitos momentos.

EPÍGRAFE

“Tua palavra é lâmpada para os meus pés
e luz para o meu caminho” (Salmos 119:105).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de autoperpetuação da inflamação e da Artrite Reumatóide (AR)	31
Figura 2: Fisiopatologia da sinovite/artrite	32
Figura 3: Recomendações 2017 da Sociedade Brasileira de Reumatologia sobre o tratamento da AR	49
Figura 4: Árvore de <i>Eriobotrya japonica</i> (E. japônica) Lindl., fruta, folha e flores.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais mediadores da inflamação aguda.....	23
Tabela 2: Principais citocinas da inflamação	25
Tabela 3: Composição do líquido sinovial	29
Tabela 4: Critérios de classificação do American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism 2010 para artrite reumatóide	36
Tabela 5: Seletividade isoforma COX (escala log)	38
Tabela 6: Bloqueadores não seletivos para COX	39
Tabela 7: Principais alvos de fármacos que foram utilizadas no tratamento ou investigação da AR	46
Tabela 8: Compostos identificados da folha de <i>E. japônica</i> com propriedades anti-inflamatórias	55

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Bloqueadores seletivos e específicos da COX-2	40
Quadro 2: Efeitos adversos dos AINEs	40
Quadro 3: Relação de fármacos corticosteróides sintéticos e a potencia/atividade relativa à hidrocortisona	42
Quadro 4: Agentes modificadores da doença (DMARDs).....	44
Quadro 5: Fármacos utilizados no tratamento da artrite reumatoide	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AAS	Ácido acetilsalicílico
ACPA	Anticorpo anti-citrulinado
ACR	<i>American Rheumatism Association</i>
ACT	Terapia de aceitação e compromisso
AIES	Anti-inflamatórios esteroidais
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
ALT	Alanina aminotransferase
Anti-CCP	Anti-peptídeos citrulinados cíclicos
Anti-IL6	Anti-interleucina 6
Anti-TNF	Anticorpo anti- <i>tumor necrosis factor</i> (fator de necrose tumoral)
AR	Artrite reumatoide
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
bDMARDs	<i>biologic DMARDs</i> (Antirreumáticos modificadores de doença biológicos)
BO	Biodisponibilidade oral
CFA	<i>Complete Freund's Adjuvant</i> (Adjuvante Completo de Freund)
COX-1	Enzima ciclooxigenase-1
COX-2	Enzima ciclooxigenase-2
COXIBEs	Drogas inibidoras seletivas de COX-2
csDMARDs	<i>Conventional synthetic DMARDs</i> (Antirreumáticos modificadores de doença sintéticos)
CXCL	<i>C-X-C motif. chemokine</i> (Quimiocina com motivo CXC)
DAMPs	<i>Damage-associated molecular patterns</i> (Padrões moleculares associados a danos)
DL	Dose letal
DMARDs	Antirreumáticos modificadores da doença
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EJLE	Extrato aquosos infuso obtido da folha de <i>Eriobotrya japônica</i>
ERO	Espécie ou intermediários reativos de oxigênio
EtOAc	<i>Ethyl acetate</i> (Acetato de Etila)
EULAR	<i>European League Against Rheumatism</i>
FARMDs	Fármacos antirreumáticos modificadores da doença
FLS	<i>Fibroblast-like synoviocytes</i> (Sinoviócitos semelhantes a fibroblastos)
FR	Fator reumatoide
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen</i> (Antígeno leucocitário humano)
HMOX-1	Heme oxygenase
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> (Cromografia líquida de alta eficiência)
IFN	Interferon
IL	Interleucina

iNOS	<i>Inducible nitric oxide synthase</i> (Enzima óxido nítrico sintase induzida)
LES	Lupus Eritematoso Sistêmico
LPS	Lipopolissacarídeo
MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinase</i> (Proteinoquinas ativadas por mitógenos)
MHC	<i>Histocompatibility complex</i> (Histocompatibilidade principal)
MPQ	<i>McGill Pain Questionnaire</i> (Questionário de dor McGill)
MTX	Metotrexato
NETs	<i>Neutrophil extracellular traps</i> (Redes fibrilares extracelulares)
NF- κ β	<i>Nuclear Factor kappa β</i> (Factor nuclear kappa β)
NO	<i>Nitric oxide</i> (Óxido nítrico)
NOS	óxido nítrico sintase
PAF	<i>Platelet-activating factor</i> (Fator de ativação das plaquetas)
PAMPs	<i>Pathogen-associated molecular patterns</i> (Padrões moleculares associados a patógenos)
PCR	Proteína C reativa
PECAM	<i>Platelet/ endothelial cell adhesion molecule</i> (molécula de adesão endotelial plaquetária)
PG	Prostaglandinas
PGI ₂	Prostaciclina
PPARG	<i>Perxisome proliferator activated receptor gamma</i> (receptores ativados da proliferação de peroxissomos)
RANKL	<i>Receptor activator of nuclear factor kappa β ligand</i> (proteína ligante do recetor ativador do fator nuclear kappa β)
RAPS	<i>Rheumatoid Arthritis Pain Scale</i> (Escala de dor de artrite reumatóide)
SAA	<i>Serum amyloid A</i> (Proteína amiloide sérica A)
SE	<i>Shared etitope</i> (Etítipo de susceptibilidade)
SF-MPQ	<i>Short-Form McGill Pain Questionnaire</i> (Formato resumido do questionário McGill)
TCC	Terapia Cognitivo Comportamental
TGF- β	<i>Transforming growth factor β</i> (Fator de crescimento transformante β)
TGO	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico-pirúvica
TLRs	<i>Toll-like receptors</i> (Receptores <i>Toll-like</i>)
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i> (Fator de necrose tumoral)
tsDMARD	<i>targeted synthetic DMARDs</i> (Alvo sintético)
Tx	Tromboxano
VAS	<i>Visual analog scale</i> (Escala analógica visual)
VDS	<i>Verbal descriptor scale</i> (Escala descritiva verbal)
VHS	Velocidade de sedimentação eritrocitária
WHYMPI	Inventário de dor multidimensional West Haven-Yale

Atividade anti-inflamatória do infuso das folhas de *Eriobotrya japonica* na artrite experimental.

RESUMO

Eriobotrya japonica (*E. japonica*) é uma planta medicinal chinesa que atualmente é cultivada no Brasil. As folhas de *E. japonica* são popularmente usadas no tratamento de inflamação; no entanto, existem poucos estudos científicos mostrando os efeitos dessas propriedades na artrite ou na doença reumatológica. A presente pesquisa teve como propósito analisar o efeito do extrato aquoso obtido pela infusão das folhas de *E. japonica* (EJLE) sobre inflamação articular. Foi realizada uma investigação experimental com camundongos *Swiss*, que foram tratados por via oral com EJLE e induzidos à inflamação pleural aguda (30, 100 e 300 mg/kg), edema de pata induzido por carragenina (100 mg/kg), inflamação articular do joelho induzida por zymosan (100 mg/kg) e inflamação persistente induzida por Adjuvante Completo de Freund (CFA) (30 e 100 mg/kg). Foram analisados hiperalgesia mecânica, frio e edema. A análise cromatográfica de EJLE revelou a presença de ácido corosólico, ácido oleanólico e ácido ursólico. EJLE apresentou atividade anti-inflamatória no modelo de pleurisia, inibindo a migração de leucócitos, extravasamento de proteínas e produção de óxido nítrico. No modelo de inflamação articular aguda, o EJLE reduziu o número de leucócitos na cavidade articular, edema da pata e hiperalgesia (quatro horas após a indução). No modelo de inflamação persistente induzida por CFA, o extrato reduziu o edema da pata e alodinia ao frio a partir da avaliação do décimo primeiro dia e hiperalgesia mecânica desde a avaliação do sexto dia. Desta forma pode-se concluir que EJLE possui potencial anti-inflamatório e anti-hiperalgésico em modelos de artrite experimental aguda e crônica, tornando este extrato uma nova possibilidade para o tratamento de doenças inflamatórias articulares agudas ou crônicas.

Palavras-chave: *E. japonica*; anti-inflamatório, anti-hiperalgésico, artrite; nêspera.

Anti-inflammatory activity of leaf infusion *Eriobotrya japonica* in the experimental arthritis

ABSTRACT

Background: *Eriobotrya japonica* (*E. japonica*) is a Chinese medicinal plant that is currently grown in Brazil. *E. japonica* leaves are popularly used in the treatment of inflammation; however, there are few scientific studies showing the effects of these properties on arthritis or rheumatological disease. Purpose: The present research is an experimental investigation of the effect of water extract obtained from infusion the leaves of *E. japonica* (*EJLE*) on experimental articular inflammation. Study Design and Methods: Swiss mice were treated orally with *EJLE* and analyzed for acute pleural inflammation (30, 100, and 300 mg/kg), paw edema induced by carrageenan (100 mg/kg), acute knee inflammation induced by zymosan (100 mg/kg), and persistent arthritis induced by Complete Freund's Adjuvant (CFA) (30, and 100 mg/kg). Mechanical hyperalgesia, cold allodynia and edema were analyzed. Results: Chromatographic analysis of *EJLE* revealed the presence of corosolic acid, oleanolic acid, and ursolic acid. *EJLE* presented anti-inflammatory activity in the pleurisy model, inhibiting leukocyte migration, protein extravasation and nitric oxide production. In the acute joint inflammation model, *EJLE* reduced the number of leukocytes in the joint cavity, paw edema and mechanical hyperalgesia (4 h after induction). In the persistent inflammation model induced by CFA, the extract reduced paw edema and mechanical hyperalgesia after 11 days and cold allodynia after day 6. Conclusions: *EJLE* has anti-inflammatory and antihyperalgesic potential in models of acute inflammation and acute and chronic articular inflammation, making this extract a new possibility for treating acute or chronic inflammatory joint diseases.

Keywords: *E. japonica*; anti-inflammatory, antihyperalgesic, arthritis; loquat.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Aspectos farmacológicos da dor e da inflamação	18
2.1.1 Processo inflamatório	18
2.1.1.1 Histórico	18
2.1.1.2 Fisiopatologia do processo inflamatório	19
2.1.1.3 Classificação do processo inflamatório: inflamação aguda e crônica	21
2.1.1.4 Mediadores da inflamação	22
2.1.2 Dor	27
2.2 Artrite	29
2.2.1 Fisiologia articular sinovial	29
2.2.2 Inflamação e dor na artrite reumatóide	30
2.2.3 Quadro clínico e diagnóstico da artrite reumatóide	34
2.3 Tratamento farmacológico da inflamação e da dor	38
2.3.1 Anti-inflamatórios e analgésicos não esteroidais (AINEs)	38
2.3.2 Anti-inflamatórios esteroidais (AIEs)	42
2.3.3 Fármacos antirreumáticos modificadores da doença (DMARDs)	45
2.4 Tratamento da artrite	46
2.5 Controle farmacológico da inflamação e da artrite com planta medicinal 53	
<i>Eriobotrya japonica (E.japonica) Lindl</i>	
3 OBJETIVOS	61
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
APÊNDICE: Artigo Anti-inflammatory and antiarthritic activity in extract from the leaves of <i>Eriobotrya japonica</i>	77
CONCLUSÕES	86
ANEXO A: Aprovação do Comitê de ética de experimentação animal(CEUA).....	87
ANEXO B: Cadrasto SISGEN	88

1 INTRODUÇÃO

A artrite é uma doença que promove um processo inflamatório articular, de causa multifatorial, com prevalência de 23% em adultos dos Estados Unidos (BARBOUR *et al.*, 2018), causa um forte impacto na qualidade de vida das pessoas e tem um alto custo de tratamento. A artrite reumatoide (AR), por exemplo, é um dos tipos de artrite mais grave e complexa, que acomete de 0,5 a 1,0% da população (SMOLEN *et al.*, 2018). No Brasil, em estudo de prevalência realizado em 2004, constatou-se que a artrite reumatóide (AR) acomete cerca de 0,48% da população (SENNA *et al.*, 2004), este número representa cerca de um milhão de pessoas (BRASIL, 2017), confirmando estudo multicêntrico anteriormente realizado de prevalência de 0,2 a 1,0% em adultos nas macrorregiões brasileiras (MARQUES-NETO *et al.*, 1993). A AR acomete principalmente mulheres (3:1) da segunda à quarta década de vida (KUMAR *et al.*, 2016) e tem como características: ser sistêmica, com manifestações de artrite poliarticular, rigidez matinal, degeneração inflamatória e destrutiva da cartilagem, destruição do tecido ósseo articular e periarticular e deformidades que podem resultar em perda da função e na incapacidade para o trabalho, afetando consideravelmente a qualidade de vida (SMOLEN *et al.*, 2018).

Os tratamentos da AR ainda são limitados pois não promovem a prevenção do dano articular, não é responsivo em todos os pacientes ou possuem muitos efeitos adversos. São eles os inibidores da síntese de prostaglandinas, analgésicos ou os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs); os glicocorticóides associados ao metotrexato (MTX); os modificadores de doença (DMARDs); e os anticorpo anti-fator de necrose tumoral (anti-TNF) ou anti-interleucina-6 (anti-IL-6) (SMOLEN *et al.*, 2018).

Os medicamentos fitoterápicos são uma importante alternativa no tratamento da inflamação crônica. Sua origem natural e composição com vários agentes ativos promovem ações farmacodinâmicas aditivas ou sinérgicas (ZHANG, J. *et al.*, 2015). A *Eriobotrya japonica* Lindl. (Família Rosaceae), popularmente conhecida como nêspera ou loquat tem origem na China e é cultivada em vários outros países (ZHOU *et al.*, 2007; MAHER *et al.*, 2015; MAEMA *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2016;). Estudos com extrato das folhas de *E. japonica* (CHA *et al.*, 2011; KIM; SHIN, 2009) e seus compostos (HUANG *et al.*, 2007; BANNO *et al.*, 2005) demonstraram a atividade da folha da planta em processos inflamatórios e na dor.

Infusões e decocções das folhas frescas e secas de *E. japonica* são utilizadas no tratamento de diversos tipos de inflamação; no entanto, embora a *E. japonica* possa ter potencial terapêutico na artrite (SIMMONDS; PREEDY, 2016), não há estudos

experimentais que demonstrem estas propriedades (ZHANG. J. *et al.*, 2015). Nesse contexto, torna-se importante avaliar atividade anti-inflamatória e antinociceptiva articular do extrato aquoso obtido por infusão da folha de *Eriobotrya japonica* (EJLE), evidenciando o seu potencial farmacológico e clínico. Dois modelos inflamatórios de carragenina (pleurisia e edema de pata) foram utilizados para determinar a curva dose-resposta, a curva de resposta temporal e o perfil anti-inflamatório, os modelos inflamação articular induzidos por zymosan e Complete Freund's Adjuvant (CFA) foram considerados para avaliar o EJLE. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a propriedade anti-inflamatória articular e anti-hiperalgésicas do EJLE.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos farmacológicos da dor e da inflamação

2.1.1 Processo inflamatório

2.1.1.1 Histórico

O termo inflamação tem origem no latim *inflammare* (incendiar) (FERRERO-MILIANI *et al.*, 2007), e do grego *phlogos* (pegar fogo) (BRASILEIRO FILHO, 2006) e consiste em uma resposta do organismo à lesão tecidual, com processos moleculares e celulares (WINYARD; WILLOUGHBY, 2003) com o objetivo de reestabelecimento da homeostase (MEDZHITOV, 2008). Os estímulos nocivos desencadeiam uma resposta inflamatória, com reações vasculares e celulares. Os sinais clínicos de rubor (vermelhidão), ardor (calor), tumor (inchaço) e dolor (dor) foram descritos pela primeira vez por Cornelius Celsus no século I d.C. (MAJNO, 1975; MEDZHITOV, 2010), a perda de função foi mencionada posteriormente por Rudolf Virchow (FERRERO-MILIANI *et al.*, 2007). Além disto, a acidose, devido à hipóxia, também é referenciada por alguns autores como componente do processo inflamatório (MENKIN; WARNER, 1937).

O processo inflamatório começou a ser compreendido melhor com John Hunter (1728–1793), cirurgião escocês da escola de cirurgiões de Londres, que fez importantes considerações sobre o sistema circulatório (HUNTER, 2007) e a sua relação com a inflamação. No entanto, no século XIX, várias descobertas contribuíram para elucidar os mecanismos do processo inflamatório. Os estudos de Rudolf Virchow relacionou a inflamação com a base celular (MEDZHITOV, 2010); Ilya Metchnikoff também contribuiu ao apresentar a teoria da imunidade celular (1892), com ação de fagócitos, na defesa e homeostase no processo inflamatório e de reparo tecidual (TAUBER, 2003); já as pesquisas sobre microrganismos de Robert Koch e Louis Pasteur, foram fundamentais na compreensão da resposta inflamatória ao agente infeccioso (MEDZHITOV, 2010) e Otto Cohnheim descreveu que as células inflamatórias tem origem da circulação por uma alteração da parede do vaso (DOERR, 1985). Posteriormente, Popielski, em 1909, descreveu um agente depressor, o qual denominou "vasodilatina", e que foi posteriormente denominado histamina, e isolado do fígado e do pulmão do corpo humano com evidências de ação vasodilatadora (BEST *et al.*, 1927; LIEBERMAN, 2011). Desta forma, foi possível começar a relacionar a conjunção dos sinais e sintomas da inflamação.

Assim, pode-se compreender que, após a injúria, os mediadores inflamatórios recrutam os leucócitos, aumentam a vasodilatação e a permeabilidade vascular; que, por sua vez, promovem a vermelhidão, o aumento da temperatura local e o edema tecidual; conseqüentemente, a compressão das terminações nervosas provoca a dor; e a dor e as alterações mecânicas podem interferir na função; concomitantemente, a hipóxia tecidual e o deslocamento glicolítico reduzem o pH que, por sua vez, aumenta o edema e a dor (KUPRASH; NEDOSPASOV, 2016). A elucidação sobre o processo inflamatório pode, então, explicar a relação do sistema imunológico com a inflamação e os seus mecanismos moleculares e mediadores inflamatórios (MEDZHITOV, 2010).

2.1.1.2 Fisiopatologia do processo inflamatório

A inflamação é uma resposta protetora vascular do sistema imunológico a uma agressão (INSTITUTE FOR QUALITY AND EFFICIENCY IN HEALTH CARE, 2010) com o propósito de proteger os tecidos e eliminar o estímulo incitante, proporcionar o reparo tecidual e estabelecer a memória imunológica (FULLERTON; GILROY, 2016). A inflamação pode ser desencadeada pelo contato do tecido com substâncias químicas, agentes físicos, microbianos, por resposta imunológica e também por isquemia (KUMAR *et al.*, 2016).

As reações inflamatórias normalmente são autolimitadas e com autorresolução; após um trauma ou infecção, com conseqüente resposta inflamatória, os mediadores celulares são ativados, e respondem com a liberação de citocinas, ampliando a ação inflamatória para que ocorra o reparo tecidual e a eliminação do patógeno (FOUGÈRE *et al.*, 2016). Assim, embora a reação inflamatória possa parecer nociva, é, na realidade, uma resposta de proteção com o intuito de combater a causa da lesão e/ou o promover o reparo tecidual, neutralizando e eliminando os agentes agressores e promovendo o reestabelecimento da homeostase tecidual (KASSUYA, 2013).

Entretanto, nas reações inflamatórias com componente autoimune, alérgico ou protetor, a inflamação aguda ou crônica pode contribuir com a patogênese de doenças como aterosclerose, obesidade, doenças neurodegenerativas, pulmonares e AR (NATHAN; DING, 2010). O envelhecimento e algumas doenças relacionadas à idade, também podem perpetuar a resposta inflamatória, pois os níveis de mediadores inflamatórios aumentam com a idade, mesmo na ausência de um fator causal (FOUGÈRE *et al.*, 2016). Além disto, a inflamação crônica no idoso, que se apresenta geralmente em baixo grau, pode aumentar a mortalidade e ser um fator predisponente para o desenvolvimento de outras doenças como diabetes tipo 2,

doenças cardiovasculares e Alzheimer, osteoporose, sarcopenia e câncer (SHACTER; WEITZMAN, 2002; GORDON, 2008; FOUGÈRE *et al.*, 2016; GERMOLEC *et al.*, 2018).

O processo inflamatório desenvolve-se por uma sequência geralmente pré-determinada que inicia na fase aguda por meio do contato do tecido com o estímulo agressor, reconhecimento extravascular por células e moléculas do tecido lesionado; liberação de citocinas, quimiocinas; recrutamento e ativação das proteínas plasmáticas e dos leucócitos da circulação sanguínea local para o local da lesão; controle e conclusão da reação; e reparo tecidual e a cicatrização; contudo, a exposição prolongada ao agente agressor ou uma resposta inadequada do organismo pode conduzir o processo para a cronicidade, o que pode resultar em danos teciduais e a fibrose (GERMOLEC *et al.*, 2018).

Os indutores exógenos da inflamação podem ser de origem microbiana e não microbiana. Dentre os grupos dos microbianos, existem os Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs) e os fatores de virulência: os PAMPs são identificados por receptores de reconhecimento de padrões do hospedeiro; os fatores de virulência não são detectados diretamente por receptores específicos, mas suas atividades no tecido do hospedeiro podem ser constatadas. Dentre os grupos de indutores exógenos não microbianos, podemos citar as substâncias alergênicas, os agentes irritantes ou tóxicos e os corpos estranhos. Já os indutores endógenos são produzidos por tecidos danificados, estressados ou com alterações funcionais, que liberam substâncias, proteínas ou partículas celulares que são reconhecidas como sinalizadores de lesão. Dentre eles, os Padrões Moleculares Associados a Danos (DAMPs), que são moléculas de células danificadas do próprio hospedeiro (MEDZHITOV, 2008; VARELA *et al.*, 2018).

Os receptores presentes na membrana plasmática, nos endossomos e no citosol detectam a presença de micro-organismos ou de corpos estranhos como, por exemplo, os pertencentes à família dos receptores *Toll-like* (TLRs), presentes principalmente nas células epiteliais, dendríticas, macrófagos e outros leucócitos; os receptores ativam o inflamassomo e este induz a produção de citocinas interleucina-1 (IL-1) (KUMAR *et al.*, 2016), Fator de Necrose Tumoral (TNF- α) e IL-6, capazes de alterar a permeabilidade do endotélio e, conseqüentemente, permitir a passagem de leucócitos para o interstício, que inicialmente são monócitos e/ou neutrófilos, que, por sua vez, liberam enzimas que degradam os microrganismos e as células mortas; no entanto, como consequência, ocorre a liberação de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), que se acumulam nos tecidos e são capazes de promover danos às células saudáveis. Além disto, o edema ocorre pelo deslocamento do plasma para o interstício (VARELA *et al.*, 2018).

2.1.1.3 Classificação do processo inflamatório: inflamação aguda e crônica

A inflamação pode ser classificada como aguda ou crônica: a inflamação aguda possui resposta inicial rápida, com duração de horas a poucos dias; enquanto a inflamação crônica é de longa duração e pode prolongar por semanas ou meses (AGOTEGARAY *et al.*, 2014).

As principais causas de inflamação aguda são: infecções (bacterianas, virais, fúngicas ou parasitárias), toxinas microbianas; necrose tecidual (por isquemia, traumas e lesões químicas ou físicas, queimaduras, corpos estranhos, sujeiras, restos metabólicos e suturas); e reações imunológicas (doenças autoimunes, alergias) (VARELA *et al.*, 2018).

As fases da inflamação aguda são caracterizadas por vasodilatação capilar, aumento do fluxo sanguíneo, aumento da permeabilidade capilar, migração de proteína plasmática e leucócitos do sangue para os tecidos, ativação e concentração dos leucócitos no foco da lesão (MEDZHITOV, 2010; MITCHELL *et al.*, 2012; AGOTEGARAY *et al.*, 2014; FULLERTON; GILROY, 2016; KUMAR *et al.*, 2016), conforme descrito a seguir:

- a) o processo inflamatório agudo inicia com uma reação vascular, promovida pela liberação de histamina, que faz a dilatação arteriolar, abertura capilar, aumento do fluxo e da permeabilidade capilar e, conseqüentemente, aumento da temperatura e hiperemia local;
- b) o aumento da permeabilidade microvascular promove a exudação de alta concentração de proteínas e resíduos celulares que resulta em edema ou conteúdo purulento (em casos de infecção);
- c) a estase favorece o deslocamento dos leucócitos sanguíneos (neutrófilos) para as proximidades do endotélio vascular que, nestas condições, expressam níveis maiores de molécula de adesão (selectinas e integrinas), moléculas de adesão celular endotelial plaquetárias do inglês *Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule* (PECAM) e citocinas. As selectinas são responsáveis pelo rolamento, as integrinas pela ligação dos leucócitos ao endotélio e a PECAM pela transmigração;
- d) os leucócitos marginalizam, rolam e aderem ao endotélio e migram para o interstício (transmigração ou diapedese) e, posteriormente, para o local da lesão por estímulos quimiotáticos. Sua função é de eliminar os agentes agressores pela fagocitose e produzir fatores de crescimento; contudo, quando fortemente ativados, podem causar dano tecidual e prolongar a inflamação;
- e) os quimiotáticos exógenos mais comuns são os produtos bacterianos e os endógenos são as cininas. Os leucócitos movem-se projetando os seus filopódios;

- f) os leucócitos participam do reconhecimento do agente agressor pelos TLRs e outros receptores, e realizam a fagocitose e a degradação da partícula por ERO e espécies reativas de nitrogênio, principalmente as derivadas de óxido nítrico (NO) produzido pela ação do óxido nítrico sintase (NOS). A enzima óxido nítrico sintase induzida (iNOS) e as enzimas lisossômicas promovem a eliminação do microrganismo ou seus produtos;
- g) os neutrófilos também podem produzir redes fibrilares extracelulares (NETs) em resposta à presença de microrganismos e aos mediadores inflamatórios. Esta rede aprisiona os microrganismos e fornecem alta concentração de substância antimicrobiana. No processo de formação das NETs, o núcleo do neutrófilo não pode mais ser visualizado, pois o processo de produção destas redes ocorre com a expulsão do conteúdo nuclear, com a consequente morte celular;
- h) alguns linfócitos T (células Th17) também participam da inflamação aguda produzindo citocina IL-17. Esta citocina estimula a secreção de quimiocinas que promovem recrutamento de leucócitos;
- i) após a eliminação do agente agressor, a inflamação aguda deve entrar em um processo de resolução para que não ocorra danos ao tecido. Para assegurar esta autorregulação, os mediadores inflamatórios são sintetizados somente na presença de estímulos, possuem pequena meia-vida e são rapidamente degradados. Além disto, os neutrófilos sofrem apoptose poucas horas após saírem da corrente sanguínea e ainda são produzidos leucotrienos pró-inflamatórios (lipoxinas anti-inflamatórias) e ocorre a liberação de citocinas anti-inflamatórias fator de crescimento transformante β (TGF- β) e a IL-10 por macrófagos e outras células. As descargas colinérgicas por impulsos neurais também parecem inibir a produção de TNF em macrófagos.

A inflamação aguda é associada a reações sistêmicas induzidas por citocinas TNF, IL-1, IL-6 e interferon do tipo I (IFN-1) caracterizadas por: febre, com aumento de 1 a 4 °C, aumento da concentração da proteína plasmática da fase aguda proteína C-reativa (PCR), fibrinogênio e proteína amiloide sérica A (SAA), leucocitose ou reações leucemóides, aumento da pulsação e da pressão arterial, calafrios, anorexia, mal estar e sonolência (KUMAR *et al.*, 2016).

A inflamação pode evoluir para a restauração da homeostase, cicatrização ou para a inflamação crônica. Também pode promover danos permanentes pelo estresse oxidativo, liberação enzimática e choque (RAUCH *et al.*, 2013) e respostas insuficientes podem levar à morbidade e redução do tempo de vida (ZHANG, J. *et al.*, 2015) e/ou fibroses. Por outro

lado, a resolução esperada do processo inflamatório deve neutralizar e eliminar o agente agressor e restaurar o tecido, finalizar a infiltração leucocitária, a apoptose e remover os neutrófilos e os resíduos pelos macrófagos, que depende de mediadores anti-inflamatórios e pró-inflamatórios: prostaglandinas ciclopentenonas, lipoxinas, Fator Nuclear Kappa β (NF- $\kappa\beta$), resolvinas, anexina I e mediadores de apoptose (KASSUYA, 2013).

A inflamação crônica pode ser compreendida como uma resolução incompleta da inflamação aguda em que não se concluiu uma resposta imune adaptativa (FULLERTON; GILROY, 2016), pela permanência do agente nocivo, das células inflamatórias mononucleares (macrófagos, linfócitos e plasmócitos) e/ou dos seus mediadores (AGOTEGARAY *et al.*, 2014), com fenômenos vasculares e exsudativos persistentes (BRASILEIRO FILHO, 2006). Os próprios leucócitos podem causar lesões celulares e teciduais em infecções de difícil resolução, em respostas autoimunes ou em reações alérgicas, por não conseguir fazer distinção das células do agressor com as células do hospedeiro. A liberação de substâncias microbidas como ERO, NO e enzimas lisossômicas pode intensificar o processo inflamatório por lesão celular e do endotélio (COTRAN *et al.*, 2000).

A inflamação crônica que ocorre em uma grande variedade de doenças, em especial as promovidas por exposição prolongada a agentes tóxicos, doenças alérgicas, autoimunes, infecções crônicas (KUMAR *et al.*, 2016), diabetes tipo 2 e parece estar relacionada com o desequilíbrio homeostático responsáveis por parte do sistema imunológico e/ou de reparo (MEDZHITOV, 2008). Este tipo de inflamação pode acelerar o envelhecimento por permanecer com níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias que interferem diretamente no sistema imunológico (FOUGÈRE *et al.*, 2016) e resultar em doença crônica associada à idade (PRASAD *et al.*, 2012).

No que se refere à inflamação e o reparo da cartilagem articular, embora a inflamação aguda possa contribuir com o processo de reparo da fratura, tem demonstrado ser prejudicial na condrogênese e na recuperação do tecido cartilaginoso; da mesma forma, a inflamação sistêmica é nociva a qualquer tipo de reparo tecidual (KRAAN, 2019). Assim, a inflamação crônica na osteoartrite pode contribuir com os sintomas e com a progressão desta enfermidade (LIU-BRYAN; TERKELTAUB, 2015).

2.1.1.4 Mediadores da inflamação

Os mediadores da inflamação são substâncias responsáveis pelo início e a regulação da inflamação, secretados por células ou produtos de proteínas plasmáticas, e podem ser classificados em: de liberação imediata (alterações vasculares e exudativas) e os de liberação

mediata ou tardia (manutenção dos fenômenos vasculares, exudativos, reparativos e produtivos, para a cura ou a cronicidade da inflamação) (BRASILEIRO FILHO, 2006). Estes mediadores declinam rapidamente, depurados, inibidos e desativados por enzimas. Por outro lado, os mediadores primários podem estimular a liberação dos secundários, com a mesma ação do mediador inicial, diferente ou antagônica, intensificando ou neutralizando a ação do mediador primário. Os principais mediadores da inflamação aguda são: aminas vasoativas, produtos lipídicos (prostaglandinas e leucotrienos), citocinas (quimiocinas) e os produtos de ativação do complemento descritos abaixo (Tabela 1) (KUMAR *et al.*, 2016).

Tabela 1: Principais mediadores da inflamação aguda

Mediador	Origem	Ação
Histamina	Mastócitos Basófilos Plaquetas	Vasodilatação Aumento da permeabilidade vascular Ativação endotelial
Prostaglandinas	Mastócitos Leucócitos	Vasodilatação Dor Febre
Leucotrienos	Mastócitos Leucócitos	Aumento da permeabilidade vascular Quimiotaxia Adesão e ativação de leucócitos
Citocinas (TNF, IL-1, IL-6)	Mastócitos Células endoteliais Macrófagos	Ação local: Ativação endotelial (expressão de moléculas de adesão) Ação sistêmica: febre, anormalidades metabólicas, hipotensão (choque)
Quimiocinas	Leucócitos Macrófagos ativos	Quimiotaxia Ativação de leucócitos
Fator ativador plaquetário	Mastócitos Leucócitos	Vasodilatação Aumento da permeabilidade vascular Adesão de leucócitos Quimiotaxia Degranulação Explosão oxidativa
Complemento	Plasma (produzido no fígado)	Quimiotaxia Ativação de leucócitos Eliminação direta do alvo (ataque à membrana) Vasodilatação (estimulação de mastócitos)
Cininas	Plasma (produzido no fígado)	Aumento da permeabilidade vascular Contração muscular lisa Vasodilatação dor

Fonte: adaptado de Kumar *et al.*, 2016, p. 85

As características dos principais mediadores da inflamação aguda e suas características são (KUMAR *et al.*, 2016; KASSUYA, 2013; GERMOLEC *et al.*, 2018):

a) aminas vasoativas: a histamina e a serotonina são os primeiros a serem liberados por estarem pré-formadas nas células, com importante ação vascular;

- b) mediadores lipídicos metabólicos do ácido araquidônico: prostaglandinas (PG) e leucotrienos estimulam as reações vasculares e celulares da inflamação aguda;
- c) mediadores lipídicos metabólicos do ácido araquidônico: lipoxinas suprimem a inflamação pela inibição do recrutamento de leucócitos, inibindo a quimiotaxia e a adesão dos neutrófilos ao endotélio;
- d) citocinas são proteínas responsáveis por mediar e regular as reações inflamatórias e imunológicas (Tabela 2), agindo como mensageiros moleculares. As citocinas da inflamação aguda são o TNF, IL-1, IL-6, quimiocinas, IL-17; da crônica a IL-12, IFN- γ e IL-17. O TNF e a IL-1 promovem a adesão e a migração dos leucócitos no endotélio. As principais funções do TNF e da IL-1 são de ativação endotelial, ativação de leucócitos e resposta sistêmica de fase aguda. As quimiocinas são as pequenas proteínas quimioatraentes de leucócitos e podem ser classificadas em quatro grupos (sub-famílias): CXC, CC, quimiocinas C, CX3C ou fractalcina. A IL-6 participa de reações inflamatórias locais e sistêmicas; a IL-17 contribui com o recrutamento de neutrófilos;
- e) o sistema complemento é composto por diversas proteínas (C1 a C9) presentes no plasma e que são ativadas por microrganismos e anticorpos e participa da imunidade ativa ou inata, promovendo a quimiotaxia leucocitária, aumento da permeabilidade vascular, opsonização, fagocitose e morte celular;
- f) o fator de ativação plaquetária (PAF) é um mediador derivado dos fosfolipídios e promove a agregação plaquetária, a vaso e broncoconstrição, a vasodilatação e o aumento da permeabilidade venular;
- g) as cininas são derivadas de proteínas de origem plasmática e são vasoativas e podem mediar a dor. A bradicinina, por exemplo, aumenta a permeabilidade vascular, dilata os vasos sanguíneos, contrai a musculatura lisa e pode causar dor se injetada na pele;
- h) neuropeptídios (ex: substância P e neurocininas) podem iniciar e regular as respostas inflamatórias e sua função está relacionada à transmissão dos impulsos de dor, regulação da pressão arterial, estímulo à secreção hormonal endócrina e aumento da permeabilidade vascular.

Tabela 2: Principais citocinas da inflamação

Citocinas	Origem	Ações na inflamação
Inflamação aguda		
TNF	Macrófago Mastócitos Linfócitos T	Estimula a expressão de moléculas de adesão endotelial Estimula a secreção de outras citocinas Efeitos sistêmicos
IL-1	Macrófagos Células endoteliais Algumas células epiteliais	Similar ao TNF Febre
IL-6	Macrófagos Outras células	Efeitos sistêmicos
Quimiocinas	Macrófagos Algumas células epiteliais Linfócitos T Mastócitos Outras células	Recrutamento de leucócitos para o local da lesão Migração de células em tecidos normais
IL-17	Linfócitos T	Recrutamento de neutrófilos e monócitos
Inflamação crônica		
IL-12	Células dendríticas Macrófagos	Aumento da produção de IFN-gama
IFN-gama	Linfócitos T Células NK	Ativação de macrófagos
IL-17	Linfócitos T	Recrutamento de neutrófilos e monócitos

Fonte: adaptado de Kumar *et al.*, 2016, p.88

Assim podemos compreender que os mediadores da inflamação promovem reações específicas. A vasodilatação é promovida pela histamina e PG; o aumento da permeabilidade vascular pelas substâncias: histamina, serotonina, complemento (C3 e C5a) e leucotrienos; a quimiotaxia, recrutamento e ativação de leucócitos por TNF, IL-1, quimiocinas, C3a, C5a e leucotrienos B4; a febre por IL-1, TNF, PG; a dor por PG e bradicininas; e a lesão tecidual por enzimas lisossômicas de leucócitos e ERO (KUMAR *et al.*, 2016).

O processo inflamatório, ao longo de suas fases, é integrado por uma complexa rede de interação entre mediadores agonistas, sinérgicos (proinflamatórios) e antagonistas (anti-inflamatórios), que agem de forma harmoniosa nos receptores celulares e nos leucócitos promovendo a regulação da sua atividade. Assim, a resolução espontânea da inflamação inicia quando há predominância de antagonistas da inflamação sobre os agonistas e/ou por bloqueio na recepção e transferência dos receptores. Os mediadores anti-inflamatórios são moléculas induzidas durante a síntese dos mediadores inflamatórios ou são os próprios mediadores inflamatórios quando agem em receptores específicos capazes de promover ação anti-inflamatória (BRASILEIRO FILHO, 2006).

A compreensão sobre o recrutamento e a migração de leucócitos contribuiu com o desenvolvimento de medicamentos anti-inflamatórios utilizando alvos terapêuticos potenciais. Os bloqueadores de TNF e antagonistas das integrinas dos leucócitos são dois importantes

exemplos de terapias para controle do processo inflamatório. No entanto, podem agir diretamente no recrutamento de leucócitos e influenciar na defesa do organismo às infecções (KUMAR *et al.*, 2016) e, além do seu alto custo, está associado a efeitos adversos e morbidade (PRASAD *et al.*, 2012).

2.1.2 Dor

De acordo com a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP, 1994), a dor é definida como “uma experiência sensorial e emocional desagradável que está associada com lesões reais ou potenciais ou descrita em termos de tais lesões”. Assim, a percepção da dor alerta o organismo sobre um dano ou uma lesão em potencial, com o intuito de protegê-lo de alguma agressão. A dor pode ser modulada por fatores psicológicos, sociais e contextuais (CARLINO *et al.*, 2014).

Em termos de duração, a dor pode ser aguda ou crônica. A dor aguda tem relação com uma lesão tecidual recente, ativação de nociceptores e pode desaparecer até mesmo antes da cura do dano tecidual; a dor crônica pode se perpetuar por meses ou anos (PARK; VASKO, 2005). A dor crônica envolve adaptações duradouras e complexas, neste tipo de dor ocorre o aparecimento de alterações sinápticas pouco adaptadas e celulares em longo prazo, com ativação de processos de memória dinâmica e pode causar distúrbios emocionais característicos, incluindo: depressão, estresse e ansiedade (ZHANG *et al.*, 2011).

A dor pode, ainda, ser classificada como fisiológica ou nociceptiva (quando há ativação direta dos nociceptores sem alterações teciduais), inflamatória (provocada por danos teciduais), neuropática (provocada por lesão do sistema nervoso central) e idiopática (onde a causa não foi identificada) (WOOLF; SALTER, 2000; THAKUR *et al.*, 2014). O correto diagnóstico da causa da dor é importante por direcionar o plano de tratamento.

As vias somatossensoriais da dor iniciam nos receptores denominados nociceptores, ou seja, terminações nervosas livres de fibras aferentes primárias sensíveis aos estímulos dorosos endógeno ou exógeno (GROSSER *et al.*, 2016). Os estímulos são conduzidos pelas vias aferentes ao corno posterior da medula espinhal e transmitidos ao tálamo e ao córtex cerebral. Os receptores de dor podem ser classificados em térmicos, mecânicos, polimodais e silentes. Os receptores térmicos são ativados por temperaturas extremas maiores que 45 °C ou menores que 5 °C; os mecânicos por pressão intensa aplicada na pele; os polimodais, por estímulos mecânicos, químicos ou térmicos de alta intensidade; e os silentes, por estímulos viscerais (KANDEL *et al.*, 2003).

As fibras aferentes nociceptivas conduzem estímulos principalmente para o corno dorsal da medula espinhal, na lâmina I e II, através das fibras A δ e C; as informações nociceptivas são, então, transmitidas da medula espinhal ao tálamo pelos tratos espinotalâmicos, espinoreticular, espinomesencefálico, cervicotalâmico e espinohipotalâmico; os núcleos talâmicos, por sua vez, transmitem estas informações aferentes ao córtex cerebral, que contribui para o processamento da dor e os neurotransmissores excitatórios da via somatossensorial da dor, são o aminoácido glutamato e os neuropeptídeos. O aminoácido glutamato, promove potencial sináptico rápido, e os neuropeptídeos (em especial a substância P), proporcionam o potencial excitatório lento. Ambos atuam coordenadamente, de modo que os neuropeptídeos parecem aumentar e prolongar as ações do glutamato (KANDEL *et al.*, 2003).

A transmissão da dor aguda envolve uma interação complexa de estruturas centrais e periféricas desde a pele, vísceras ou outros tecidos até o córtex cerebral. Vários estímulos nocivos ativam as terminações nervosas livres e periféricas de fibras aferentes sensoriais delgadas do tipo C e A δ (JULIUS; BASBAUMN, 2001). Estas fibras são formadas por neurônios cujos corpos celulares encontram-se nos gânglios da raiz dorsal, desencadeando o reflexo de retirada coordenado pela medula espinhal, no intuito de retirada do membro que recebeu o estímulo (WATKINS; MAIER, 2002). As redes neurais periféricas e centrais que medeiam a nocicepção possuem extensa plasticidade nas patologias. A plasticidade induzida por doença pode ocorrer em nível estrutural e funcional e se manifesta como mudanças em moléculas individuais, sinapses ou função celular (KUNER, 2010).

O mecanismo de indução da dor crônica ainda não está totalmente esclarecido (HARRISON, 2013) e os processos inflamatórios que sensibilizam os nociceptores ainda estão sendo elucidados. As células imunológicas interferem na liberação de mediadores inflamatórios de tal forma que podem ser tanto pronociceptivas, como as citocinas TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-17 (MESSLINGER; HANDWERKER, 2015), e a bradicinina, histamina, serotonina, adenosina trifosfato (ATP), neurofinas, PG, substância P, dentre outros (GROSSER *et al.*, 2016); como antinociceptivas (opioides endógenos), promovendo uma sensibilidade equilibrada do nociceptor do tecido inflamado (MESSLINGER; HANDWERKER, 2015). Os modelos experimentais em animais e os estudos clínicos têm sido utilizados para entendimento da complexa neurobiologia da dor (CARLINO *et al.*, 2014).

Em situações patológicas, a ativação dos nociceptores podem proporcionar estados anormais de dor: a alodinia e a hiperalgesia. Na alodinia, a dor é promovida somente por estímulos considerados inócuos; já na hiperalgesia, há uma resposta excessiva a estímulos

nocivos (KANDEL *et al.*, 2003) ou não nocivos (KUNER, 2010). O termo hipernocicepção refere-se à sensibilização dos nociceptores, isto é, a diminuição do seu limiar de ativação, e tem sido empregado para designar alodinia ou hiperalgesia em animais de experimentação (CUNHA *et al.*, 2004). A disestesia, por sua vez, embora não seja exatamente uma dor, trata-se de uma sensação desagradável causada por estímulos comuns, ou, ainda, sem qualquer estímulo (WOOLF; MANNION, 1999). Estes sintomas ocorrem por haver um limiar reduzido para a dor em situações anormais, podendo ser classificados em hiperalgesia primária, na área do tecido lesionado, ou secundária, nos tecidos próximos à área de lesão (BEAR *et al.*, 2002). A hiperalgesia primária é mediada pela sensibilização dos nociceptores aferentes primários, promovendo o aumento das respostas aos estímulos; a hiperalgesia secundária provavelmente ocorre devido à sensibilização do sistema nervoso central (CAMPBELL; MEYER, 2006).

Na lesão tecidual, o estado anormal de dor é promovido pela liberação de bradicinina, PG e da substância P, que modulam a excitabilidade dos nociceptores, tornando-os muito sensíveis aos estímulos mecânicos e térmicos. A bradicinina pode despolarizar os nociceptores e deixar sensíveis os canais iônicos ativados pela temperatura; as PG aumentam muito a sensibilidade dos nociceptores a outros estímulos; e a substância P causa vasodilatação e liberação de histamina pelos mastócitos (BEAR *et al.*, 2002).

2.2 Artrite

2.2.1 Fisiologia articular sinovial

As articulações sinoviais localizam-se nas extremidades dos ossos, caracterizadas por possuir cavidade articular, cartilagem, ligamentos e capsula fibrosa, ligamentos e músculos/tendões periarticulares. Também possui membrana sinovial, com função de limitar o espaço articular e produzir líquido sinovial responsável pela lubrificação e pela nutrição da cartilagem articular. Estas membranas sinoviais podem ter de uma a quatro camadas de sinoviócitos: tipo A (macrófagos fagocitários); tipo B (semelhantes a fibroblastos capazes de sintetizar ácido hialurônico e proteínas) (KUMAR *et al.*, 2016). O líquido sinovial é derivado do plasma, acrescido de mucopolissacarídeos e de células da membrana sinovial, com aspecto claro ou amarelado, densidade relativa de 1,010, pH entre 7,4 e 7,8 e viscosidade relativa média de 230 N.s/m² (GOLDING, 2001) (Tabela 3):

Tabela 3: Composição do líquido sinovial

Composição	
Contagem celular	10-200 por mm ³
Polimorfos	Média de 6 por mm ³
Mononucleares	Média de 70 por mm ³
Células sinoviais	Média de 5 por mm ³
Proteína total	10 a 20 g por l
Albumina	Menos de 1,0 g por 100 ml
Globulina	Menos de 0,5 por 100 ml
Ureia	Ligeiramente menor do que no soro
Ácido úrico	Ligeiramente menor do que no soro
Glicose	Média de 3 mm 01 por l

Fonte: Adaptado de Golding, 2001, p.7.

A cartilagem hialina é composta de 70% de água e 8% proteoglicanos (resistência à compressão e redução do atrito), 10% colágeno tipo II (resistência ao estresse de tensão e compressão), e condrócitos (realizam a síntese de matriz e secretam enzimas catabólicas). O desequilíbrio do catabolismo enzimático e a liberação de citocinas (IL-1 e TNF) produzidas por condrócitos, sinoviócitos, fibroblastos e células inflamatórias podem desencadear um processo degenerativo (KUMAR *et al.*, 2016). A articulação sinovial tem características que a torna suscetível ao desenvolvimento de alterações decorrentes da AR: a vasculatura mais permeável facilita a entrada de proteínas e de células; o revestimento sinovial contém sinoviócitos semelhantes a macrófagos e fibroblastos, e não tem junções coesas e nem membrana basal organizada, portanto não possui muita eficiência como barreira (FIRESTEIN; MCINNES, 2017).

2.2.2 Inflamação e dor na artrite reumatoide

A artrite reumatoide (AR) é uma doença reumática e inflamatória crônica, com etiologia ainda não plenamente elucidada, mas possível de caracterizar como imunopatológica sistêmica que acomete principalmente as articulações com sinovite inflamatória proliferativa. Assim como nas outras doenças autoimunes, a patogenia da AR ocorre pela predisposição genética e exposição aos fatores ambientais (KUMAR *et al.*, 2016). Assim, a alteração do tecido estromal, dão à doença a sua característica hereditária, de tal forma que, antes mesmo de aparecer os sintomas da AR, autoanticorpos já podem ser detectados circulantes (KAMINSKY *et al.*, 2009; FIRESTEIN; MCINNES, 2017), além disto, modificações epigenéticas do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) genômico interferem na regulação da expressão gênica da doença (AI *et al.*, 2016).

O antígeno leucocitário humano (HLA) é considerado o fator genético predominante no desenvolvimento da AR, e a presença dos alelos HLA-DRB1 etítopo de susceptibilidade (SE) e dos anticorpos anti-peptídeos citrulinados cíclicos (anti-CCP) é considerada fator de

risco para AR (WEYAND *et al.*, 1992; USNAYO *et al.*, 2011). A modificação da proteína através da citrulinização é frequente na inflamação ou no estresse; na AR ocorre a geração de anticorpos contra esses epítomos e a de probabilidade de AR em indivíduos com alelos HLA-DR4 de classe II do *locus* de histocompatibilidade principal (MHC) é de aproximadamente 5:1. (FIRESTEIN; MCINNES, 2017). O SE aumenta a gravidade da doença, como manifestações extra-articulares e progressão de erosões. Estas alterações imunológicas associadas aos fatores genéticos e às alterações fenotípicas como o tabagismo (KÄLLBERG *et al.*, 2010), as infecções periodontais (*Porphyromonas gingivalis*) (WEGNER *et al.*, 2010) e a alteração da microbiota gastrointestinal (*Prevotella copri* no colon) (SCHER *et al.*, 2013; ZHANG, X. *et al.*, 2015), estresse e deficiência de vitamina D podem aumentar as citocinas e quimiocinas inflamatórias e alterar o metabolismo fazendo com que a doença passe de uma fase pré-clínica para clínica crônica. Neste estágio, a doença passa a promover sua autoprogressão, agravando o quadro com a liberação de células mesenquimais, leucócitos, osteoclastos/condrócitos, citocinas / quimiocinas, autoanticorpos, complexos imunitários e mediadores moleculares (FIRESTEIN; MCINNES, 2017).

A microcirculação na artrite encontra-se desregulada e o aumento do metabolismo das células imunes e inflamatórias e a baixa nutrição e oxigenação da sinóvia, proporciona um ambiente de hipóxia com disfunção mitocondrial e consequente dano oxidativo, exacerbando a inflamação. As células sinoviais alteram o seu metabolismo e iniciam a proliferação que, associada à neovascularização e ao extravasamento de leucócitos, modificam a estrutura sinovial transformando-se em um tecido invasivo denominado “*pannus*”, que por sua vez, causa estresse oxidativo, alteração do metabolismo energético celular e hipóxia (MCGARRY *et al.*, 2018). Estas lesões articulares, possíveis de observar em exames de imagem, raramente são visíveis nos estágios iniciais da doença, mas progridem ao longo do tempo (ALETAHA *et al.*, 2010).

Portanto, a artrite é uma doença crônica e progressiva, de natureza autoimune, caracterizada por apresentar neovascularização com extravasamento de leucócitos, proliferação sinovial e degradação da cartilagem e tecido ósseo articular e consequente incapacidade funcional e deformidades (MCGARRY *et al.*, 2018). Os linfócitos T CD4+ auxiliares (Th) reagem a algum agente capaz de desenvolver um processo artrítico e inicia uma resposta autoimune, produzindo citocinas capazes de estimular outras células inflamatórias que passam a produzir IFN- γ , IL-17, TNF, IL-1 e é possível identificar a proteína ligante do recetor ativador do fator nuclear kappa β (RANKL) no sítio da AR; destes, o TNF tem sido fortemente relacionado à patogenia da AR (KUMAR *et al.*, 2016). A

presença de autoanticorpos, como o fator reumatoide (FR) e anticorpo anticitrulinado (ACPA) pode preceder a manifestação clínica da AR por muitos anos; contudo, esta autoimunidade e a inflamação sistêmica e poliarticular podem impulsionar a progressão destrutiva da doença (ALETAHA *et al.*, 2010). Em indivíduos com um perfil genético e epigenético, os eventos estocásticos podem sofrer modificação das proteínas e, a formação de anticorpos que reconhecem peptídeos alterados. O local de estresse ou os órgãos linfóides são os responsáveis pela produção de anticorpos. Entretanto, é necessário, para o desenvolvimento da doença, que ocorra um segundo processo que permita localizar o tecido alvo da doença como as vias vasculares, neuroreguladoras, microtraumas (FIRESTEIN; MCINNES, 2017) ou, ainda, infecções articulares com o vírus Epstein-Barr, por exemplo. A ligação antígeno-anticorpo fixa o complemento, libera fragmentos quimiotáticos e iniciam a cascata que ativa e recruta outras células imunológicas e a ativação do estroma (TAN; SMOLEN, 2016), com uma consequente produção de citocinas e quimiocinas capazes de gerar um ciclo de autoperpetuação da inflamação e da doença (FIRESTEIN; MCINNES, 2017) (Figura 1).

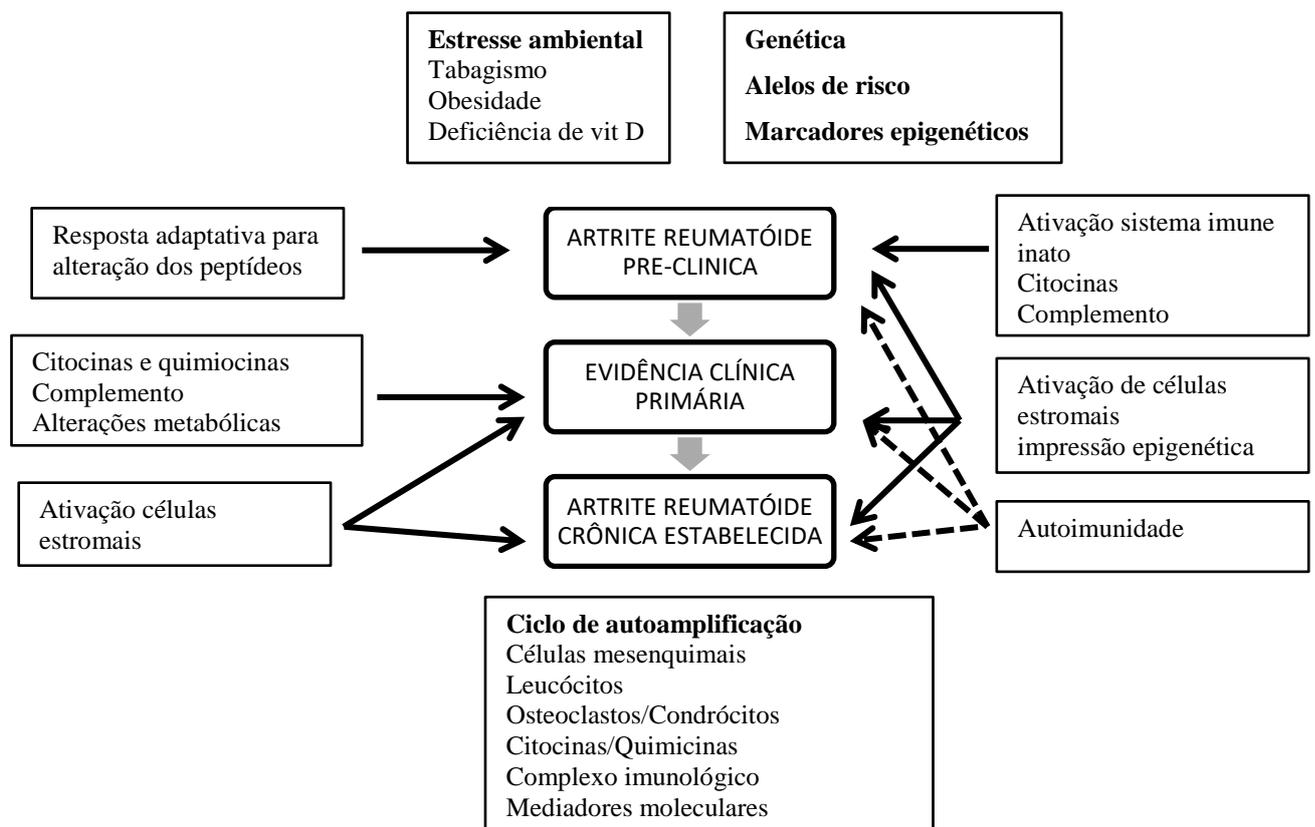


Figura 1: Ciclo de autoperpetuação da inflamação e da Artrite Reumatóide (AR)
 Fonte: Adaptado de Firestein; Mcinnes, 2017, p.24

As células mielóides (macrófagos) ativadas pela sinovite podem perpetuar a patogênese da AR, uma vez que estes liberam IL-6 e TNF e, provavelmente, o GM-CSF. As

vias imunológicas adaptativas são os autoanticorpos, interações de células T ativando macrófagos e ativação de sinoviócitos semelhantes a fibroblastos (FLS), citocinas de células T e B; a via imunológica inata ocorre pela ativação de macrófagos, ativação e netose de neutrófilos, mastócitos e degranulação e de células NK iLC; as vias estromais são pela ativação de FLS, modulação epigenética, déficit reparativo e subconjuntos funcionais; as vias sistêmicas são promovidas pelo distúrbio metabólico, disfunção vascular, perda óssea sistêmica sobreposta, déficit conectivo, neuropático e disfunção autonômica (Figura 2) (FIRESTEIN; MCINNES, 2017).

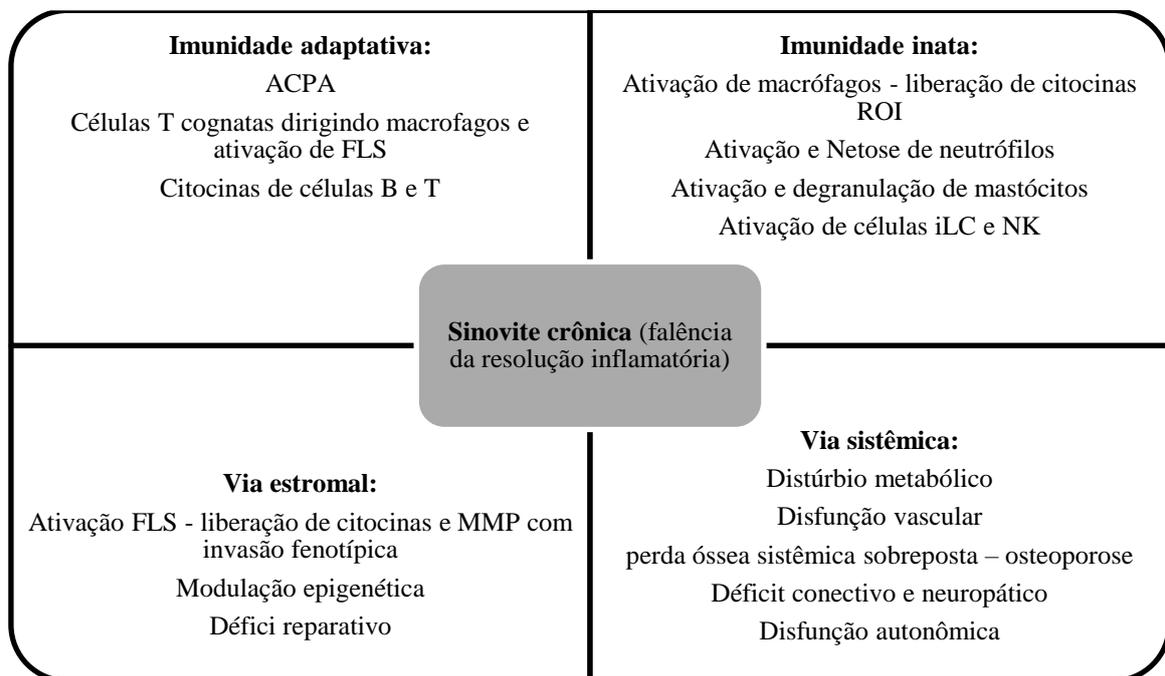


Figura 2: Fisiopatologia da sinovite/artrite
Fonte: Adaptado de Firestein; Mcinnes, 2017, p.27

A dor representa um sintoma fundamental em pacientes com AR, de causa multifatorial e de alta prevalência nestes pacientes, geralmente é o primeiro sintoma que faz o paciente buscar um diagnóstico. A sinovite, a inflamação sistêmica e o dano articular podem ser responsáveis pelo início e pela perpetuação da dor na AR; no entanto, a dor é comumente relatada na ausência de sinovite ou lesão articular, o que pode estar relacionada à hipersensibilidade dos neurônios nociceptivos periféricos e hiperexcitabilidade de neurônios nociceptivos centrais. A dor de grande intensidade é identificada em pacientes com doença altamente ativa, e obtém melhora considerável com a utilização da terapia com antirreumáticos modificadores da doença (DMARD) sintéticos (csDMARD) e biológicos (bDMARD), por reduzir a sinovite (SCOTT *et al*, 2018).

Existem instrumentos específicos para avaliar a dor dos pacientes com artrite reumatóide, dentre eles (BURCKHARDT; JONES, 2003):

- a) Questionário de dor McGill (MPQ): afere diferentes experiências subjetivas da dor, dirigido à população adulta com doenças crônicas que promovem dor (MELZACK, 1975);
- b) Escala de dor de artrite reumatóide (RAPS): mede as descrições, intensidade e interferência da dor e aspectos fisiológicos, afetivos, sensorial-discriminativo e cognitivo, para adultos com artrite reumatóide (ANDERSON, 2001)
- c) Formato resumido do questionário McGill (SF-MPQ): mede as diferentes experiências subjetiva da dor, sensoriais e afetivas (MELZACK, 1987);
- d) Escala descritiva verbal (VDS): mede a intensidade da dor quantitativamente e qualitativamente (descriptor verbal: sem dor, dor leve, dor moderada, dor intensa , dor muito grave, dor mais intensa imaginável) (KEEFE, 1948);
- e) Escala analógica visual (VAS): mede a intensidade da dor em uma linha vertical ou horizontal, de 10 centímetros de comprimento, com descritores verbais de “sem dor” e “dor tão ruim quanto poderia ser” (KEEFE, 1948);
- f) Inventário de dor multidimensional West Haven-Yale (WHYMPI): descreve a dor e como isso afeta o indivíduo, mede a gravidade e a interferência da dor, as respostas individuais à dor e o impacto nas atividades diárias (KERNS *et al.*, 1985).

2.2.3 Quadro clínico e diagnóstico da artrite reumatóide

O início dos sintomas clínicos da AR, como o mal-estar, a fadiga e a mialgia / artralgia generalizada, presentes em cerca de 50% dos pacientes, estão relacionados à IL-1 e ao TNF. Posteriormente, a AR geralmente se manifesta como uma artrite simétrica das pequenas articulações das extremidades dos membros inferiores e superiores, com edema, aumento de temperatura, rigidez após imobilização prolongada, hiperplasia e espessamento sinovial com um denso infiltrado inflamatório, angiogênese, exudato fibrinopurulento, atividade osteoclástica subjacente, com evolução para a formação do *pannus* (edema sinovial, células inflamatórias, fibroblastos e tecido de granulação) capaz de promover erosão da cartilagem, que pode evoluir para a anquilose articular (KUMAR *et al.*, 2016). A AR tem natureza progressiva e, se não tratada adequadamente, tende a desenvolver muitas complicações e deformidades provenientes da lassidão ou ruptura dos tendões e/ou das erosões articulares. A AR pode levar a deformidades tardias como: desvio ulnar dos dedos, hiperextensão das articulações interfalangianas proximais e flexão das interfalangianas distais ou flexão das interfalangianas proximais e hiperextensão das interfalangianas distais, aumento

diâmetro do punho e das articulações metacarpofalângicas e com atrofia interóssea dorsal, joelhos, tornozelos e hálux valgo, hiperextensão das articulações metatarsofalangianas e extensão das interfalangianas distais, exposição da cabeça dos metatarsianos e pés planos (VENABLES; MAINI, 2012).

A inflamação tendínea, ligamentar e muscular periarticular podem contribuir com o desenvolvimento das deformidades como o desvio radial do punho, desvio ulnar dos dedos, e deformidade em *boutonnière* (flexão/hiperextensão dos dedos), derrame articular, osteopenia e perda da cartilagem (KUMAR *et al.*, 2016). Na coluna vertebral, pode haver subluxação atlantoaxial com dor irradiada na região occipital, redução da lordose cervical e redução da amplitude de movimento passivo e/ou compressão medular (SCHUR; CURRIER, 2012); no entanto, a região lombossacra e dos quadris geralmente não são acometidas (KUMAR *et al.*, 2016).

Um estudo de prevalência com 1716 pessoas na Índia, traçou o perfil de pacientes com AR com idade média de 48,1 (DP \pm 12,71), com uma relação de cinco vezes mais mulheres do que de homens, duração de 48 meses (0,5 - 484), manifestações extra-articulares 13%, nos primeiros dois anos da doença e com aumento progressivo, esta prevalência foi menor em pacientes com baixa atividade da doença e maior em pacientes com a presença de deformidades (CHANDRASHEKAR *et al.*, 2017). Estas manifestações agravam o quadro clínico que pode manifestar-se com nódulos reumatóides subcutâneos na face ulnar do antebraço, occipital, lombossacra ou cotovelo, e também nos órgãos como pulmão, coração, baço ou outras vísceras (KUMAR *et al.*, 2016), além de vasculite, episclerite e escleromalácia perforante (SCHUR *et al.*, 2012). Desta forma, a AR pode comprometer gravemente a capacidade funcional e aumentar a taxa de mortalidade dos pacientes.

A fadiga também é outro sintoma comum nos pacientes com AR, principalmente nas mulheres, e podem estar relacionados às características fisiopatológicas da doença, tanto no aspecto físico, quanto no cognitivo, emocional e social, e pode relacionar-se com a dor, as limitações físicas e a depressão (NIKOLAUS *et al.*, 2013). Os níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF), a desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e os fenômenos neurológicos envolvendo o núcleo central e o sistema nervoso autônomo podem estar envolvidos com esta fadiga e interagir com a dor e a depressão (LOUATI; BERENBAUM, 2015).

Os critérios internacionais estabelecidos pela associação americana de reumatismo de 1987 (*American Rheumatism Association - ACR*) para a classificação da AR e o diagnóstico incluem: rigidez matinal com duração de pelo menos 1 hora; edema de tecidos moles (artrite)

de três ou mais articulações; artrite das articulações interfalangeanas proximais, metacarpofalangeanas ou do punho; artrite simétrica; nódulos reumatóides; presença de FR; erosões radiográficas e/ou osteopenia periarticular nas articulações da mão e /ou punho. As quatro primeiras devem estar presentes por pelo menos seis semanas (ARNETT *et al.*, 1988). No entanto, o diagnóstico precoce para os pacientes com artrite inflamatória persistente que pode evoluir para AR é muito importante por requerer terapia apropriada, uma vez que o tratamento precoce oferece um melhor prognóstico para os desfechos clínicos e reduz o risco de dano e incapacidade funcional articular (ALETAHA *et al.*, 2010).

Os novos critérios Critérios de classificação do *American College of Rheumatology* (ACR)/ *European League Against Rheumatism* (EULAR) 2010 para AR, são atualmente recomendados e demonstraram ser sensíveis para detectar a doença nas fases iniciais, sem deixar de detectar a AR em fase avançada (NEOGI *et al.*, 2010; BRITSEMMEER *et al.*, 2011; RADNER *et al.*, 2014;), contribuindo com o diagnóstico precoce e a tomada de medidas terapêuticas eficazes na supressão da doença e prevenção de deformidades. No entanto, os critérios de 2010 não identificam alguns pacientes que seriam classificados pelos critérios de 1987, como é o caso dos pacientes com artrite simétrica em poucas articulações e soronegativa.

Os critérios ACR/EULAR de 2010 exigem que haja mais de 10 articulações acometidas, e que pelo menos uma destas articulações seja pequena para diagnosticar AR em pacientes soronegativos; no entanto, pacientes soronegativos com AR, podem atender os critérios de ACR de 1987, mas não aos critérios ACR/EULAR de 2010, por ter menor ou igual a 10 articulações comprometidas (JUNG *et al.*, 2011). Estes critérios podem ser aplicados a qualquer paciente que tenha evidências clínicas de sinovite clínica ativa, com edema em pelo menos uma articulação, sem diagnóstico de outra doença. Devem ser contadas todas as articulações acometidas, exceto a interfalangeana distal, a primeira metatarsofalangeana e a carpometacarpeana, pois estas são mais comumente acometidas pela osteoartrite (Tabela 4). Os diagnósticos diferenciais incluem: lúpus eritematoso sistêmico (LES), psoríase, artrite e gota, dentre outros (ALETAHA *et al.*, 2010).

Tabela 4: Critérios internacionais Colégio Americano de Reumatologia de 2010 (ACR) e Liga Europeia Contra o Reumatismo (EULAR) para artrite reumatoide. Qual é o perfil do paciente que deve ser avaliado?

1) paciente com pelo menos 1 articulação com sinovite clínica definida (edema)

2) paciente com sinovite sem diagnóstico de outra doença

Critérios de classificação para AR (algoritmo baseado em escore: adicionar pontuação das categorias A - D; uma pontuação de 6/10 é necessária para a classificação de um paciente como tendo artrite reumatoide definida)

Critérios	Score
A- Envolvimento articular	
1 grande articulação	0
2 a 10 grandes articulações	1
1 a 3 pequena articulações (com ou sem envolvimento de grandes articulações)	2
4 a 10 pequena articulações (com ou sem envolvimento de grandes articulações)	3
Mais do que 10 articulações (pelo menos uma pequena articulação)	5
B - Sorologia (pelo menos 1 resultado do teste)	
Fator reumatóide negativo e anticorpo anti-citrulínico negativo	0
Fator reumatóide baixo-positivo ou anticorpo anti-citrulínico baixo-positivo	2
Fator reumatóide alto-positivo ou anticorpo anti-citrulínico alto-positivo	3
C - Reagentes da fase aguda (pelo menos 1 resultado do teste)	
Proteína C-reativa (PCR) normal e taxa de sedimentação eritrocitária (VHS) normal	0
Proteína C-reativa (PCR) anormal e taxa de sedimentação eritrocitária (VHS) anormal	1
D – Duração dos sintomas	
Menos que 6 semanas	0
Igual ou maior que 6 semanas	1

Fonte: Adaptado de Aletaha *et al.*, 2010, p.15.

Aplicação dos critérios de classificação ACR/ EULAR 2010 fornece uma pontuação de 0 a 10, sendo que seis pontos pode ser indicativo da presença de AR. Para uma classificação segura, deve ser considerada a duração dos sintomas, a avaliação clínica e pelo menos uma sorologia de FR ou ACPA e uma análise de reagentes de fase aguda: taxa de sedimentação eritrocitária (VHS) ou PCR; entretanto, alguns pacientes podem ser classificados como portadores de AR independentemente de sua resposta sorológica ou de análises de reagentes da fase aguda (ALETAHA *et al.*, 2010).

O Protocolo clínico e as diretrizes terapêuticas da AR da Portaria conjunta n.15, de 11 de dezembro de 2017 adota as recomendações do Consenso da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e avaliação precoce da AR 2011: o diagnóstico da AR deve considerar os aspectos clínicos e os exames complementares; atenção ao diagnóstico diferencial; considerar que o FR tem sensibilidade e especificidade limitadas na AR inicial; o anti-CCP tem sensibilidade semelhante a do FR, mas especificidade superior, principalmente no início da doença; provas de atividade inflamatória devem ser solicitadas quando houver suspeita clínica de AR; a radiografia e, se necessário, a ultrassonografia e a ressonância magnética, devem ser adotadas para o diagnóstico e o prognóstico da doença; podem-se utilizar critérios de classificação de AR ACR/EULAR 2010 como auxiliar do diagnóstico em pacientes com AR em fase inicial, embora ainda não validados; utilizar um dos índices compostos para avaliação da atividade da AR, assim como pelo menos um instrumento de

avaliação da capacidade funcional; verificar a presença ou não de fatores que podem oferecer um mal prognóstico (DA MOTA *et al.*, 2011).

O diagnóstico de AR utiliza como referência os sinais e sintomas clínicos e os exames complementares. Na avaliação complementar dos pacientes com AR, recomenda-se para o diagnóstico e prognóstico a titulação de autoanticorpos, tais como FR e quando este for negativo ou haja dúvida diagnóstica, deve ser solicitado o teste para anti-CCP. Alguns aspectos clínicos e laboratoriais estão relacionados a um mal prognóstico e à rápida destruição articular: sexo feminino, baixo nível socioeconômico, tabagismo, aparecimento dos sintomas em jovem, FR ou anti-CCP elevados, velocidade de hemossedimentação ou proteína C reativa elevada por longo período, sintoma em muitas articulações, manifestações extra-articulares, alta atividade inflamatória, erosões nas fases iniciais da doença, presença de SE (BRASIL, 2017).

2.3 Tratamento farmacológico da inflamação e da dor

Após uma lesão tecidual, ocorre um aumento dos mediadores pró-inflamatórios que desencadeiam o processo inflamatório. Estes mediadores ativam os leucócitos, sensibilizam nociceptores ocasionando a dor, e promovem a liberação de citocinas que podem perpetuar o processo inflamatório (KASSUYA, 2013). Este processo inflamatório possui mecanismos de defesa e de reparo tecidual; contudo, a inflamação e a dor persistente podem perpetuar ou agravar a doença de base (LAVETI *et al.*, 2013). Desta forma, existem medicamentos clássicos e grande interesse no desenvolvimento de novos medicamentos que contenha a inflamação e reduza o processo algico. São os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e esteroidais (AIEs), inibidores da lipoxigensase e fármacos antirreumáticos modificadores da doença (KASSUYA, 2013).

2.3.1 Anti-inflamatórios e analgésicos não esteroidais (AINEs)

Os fitoterápicos são os precursores na evolução do desenvolvimento dos medicamentos atualmente utilizado. Segundo Reverendo Edmundo Stone, em 1763, Hipócrates recomenda o uso de casca e folhas do salgueiro e a rainha-dos-prados (*Spirea ulmaria*) como antipirético; em 1829, Leroux cristalizou a salicina; em 1836, o ácido salicílico foi isolado por Pina; em 1859, o ácido salicílico foi sintetizado por Kolbe; por volta de 1874, inciou-se a produção industrial do ácido salicílico; e em 1899, o teste com ácido acetilsalicílico (AAS) foi realizado por Hoffmann / Bayer; em 1893, von Mering popôs a utilização do paracetamol; em 1949, o paracetamol se tornou popular como o principal

metabólito ativo da acetanilida (1886 antifebrina – Cahn e Hepp – alta toxicidade) e a fenacetina introduzida no mercado em 1887 e retirada em 1980 (GROSSER *et al.*, 2016); em 1971, John R. Vane descreveu o mecanismo de ação dos AINEs com a inibição da síntese de prostanóides (VANE, 1971).

Os AINEs são muito utilizados no tratamento de doenças inflamatórias como a AR e são popularmente conhecidos pela sua atividade anti-inflamatória, antipirética e analgésica por sua ação inibindo a enzima ciclooxigenase (COX: COX-1 e COX-2), (GROSSER *et al.*, 2016). Estas enzimas COX-1 e COX-2 são capazes de catalisar a formação das PG, dos tromboxanos (TX) e das levuloglandinas (FITZPATRICK, 2004). Desta forma, quando a COX é inibida, também se inibe a conversão do ácido araquidônico em PG, prostaciclina (PGI₂) e TX, tornando-a um importante alvo farmacológico (MARNETT *et al.*, 1999; LUCAS *et al.*, 2019); no entanto, seu uso prolongado no tratamento de doenças crônicas pode resultar em lesão renal aguda por vasoconstrição e isquemia medular (LUCAS *et al.*, 2019).

Os fármacos AINEs: aspirina, ibuprofeno, diclofenaco, nimesulida, indometacina, naproxeno, inibem a COX-1 e COX-2, portanto não são seletivos para COX, e, consequentemente, inibem a síntese de PG (eficaz no tratamento da dor e da febre) (KASSUYA, 2013). A seletividade ou não seletividade para COX não é a mesma para todos os fármacos (Tabela 5).

Tabela 5: Seletividade isoforma da ciclo-oxigenase (COX) (escala log):

	Mais seletivo para COX1	Não seletivo	Mais seletivo para COX2
Cetorolaco	■		
Flurbiprofeno	■		
Cetoprofeno	■		
Indometacina	■		
Tolmetina	■		
Ácido acetilsalicílico	■		
Nabumetona	■		
Fenoprofeno	■		
Meclofenamato	■		
Sulindaco	■		
Naproxeno	■		
Piroxan	■		
Ibuprofeno		■	
Paracetamol		■	
Salicilato de sódio		■	
Diflunisal		■	
Meloxicam			■
Diclofenaco			■
Celecoxibe*			■
Valdecoxibe*			■
Etodolaco			■
Rofecoxibe*			■
Etoricoxibe*			■
Lumiracoxibe*			■

*inibidores da COX2

Fonte: Adaptado de Grosser *et al.*, 2016, p.962

Muitos fármacos bloqueadores não seletivos para COX são utilizados no tratamento das doenças inflamatórias, dentre eles: diflunisal (derivado de ácido salicílico); o etodolaco (derivado do ácido acético); o flurbiprofeno (derivado de ácido propiônico); o ibuprofeno (derivado do ácido fenilpropiônico); o indometacina (derivado indólico); o cetoprofeno (derivado do ácido propiônico); nabumetona (pró-fármaco cetona); o naproxeno (derivado de ácido naftilpropiônico); a oxaprozina (derivada do ácido propiônico); o piroxicam (oxican); o sulindaco (profármaco sulfóxido); tolmetina; outros (azapropazona, carprofeno, meclofenamato e tenoxicam) (Tabela 6) (BORAZAN; FURST, 2017).

Tabela 6: Bloqueadores não seletivos para ciclo-oxigenase (COX):

Compostos	Grupo	Fármacos derivados
ÁCIDO CARBOXÍLICO	Ácidos salicílicos	Acetil salicilato de lisina Ácido acetil salicílico Diflunisal
	Ácidos acéticos	Cetorolaco Tolmetina Nabumetona Etodolaco Indometacina Sulindaco
	Ácidos fenilacéticos	Diclofenaco
	Ácidos propiônicos	Cetoprofeno Fenoprofeno Flurbiprofeno Ibuprofeno Naproxeno
	Ácidos fenâmicos	Meclofenamato
	Ácidos antranílicos	Ácido mefenâmico Ácido niflúmico
	ÁCIDOS ENÓLICOS	Pirazolônicos
Oxicanos		Piroxicam Tenoxicam
PARA-AMINOFENOL	Paracetamol / Acetaminofeno	

Fonte: Adaptado de Grosser *et al.*, 2016, p. 962.

Estudos recentes apontam que a COX-1 é responsável pela produção de PG que está relacionada à inflamação e ao equilíbrio homeostático (equilíbrio de fluidos, eletrólitos renais, proteção gastrointestinais); já a COX-2 pode gerar PG envolvidas apenas nas reações inflamatórias. Desta forma, a busca por novas drogas inibidoras seletivas de COX-2 (COXIBEs), que podem bloquear mais a COX-2 que a COX-1, denominados inibidores específicos de COX-2: celecoxib (Celebrex®), rofecoxib (Vioxx®), valdecoxib®, etoricoxib® e lumiracoxib® podem ser anti-inflamatórios com menor propensão ao desenvolvimento de úlcera gástrica; entretanto, podem aumentar o risco de eventos cérebro e cardiovasculares por desenvolvimento de trombose vascular (por inibir a produção de PGI₂, importante anti-agregador plaquetário; e por não inibir a COX-1, mediador da produção de tromboxano A₂ (TxA₂), importante mediador da vasoconstrição e de agregação plaquetária; assim, o AINEs e o AINEs seletivos para COX-2 possuem propriedades anti-inflamatórias,

antipiréticas e analgésicas por inibição da síntese de PG; embora os seletivos para COX-2 tenham sido desenvolvidos para minimizar os efeitos adversos gastrointestinais, apresentaram toxicidade cardiovascular e hepática (KASSUYA, 2013; KUMAR *et al.*, 2016; GROSSER *et al.*, 2016).

Posteriormente houve indícios de que o Rofecoxibe (Vioxx®) utilizado no tratamento da artrite poderia causar graves eventos cardiovasculares (BOMBARDIER *et al.*, 2002) e foi retirado do mercado pela própria fabricante (KASSUYA, 2013). O Rofecoxib (Vioxx®) e celecoxib (Celebrex®) reduzem a síntese de PGI₂, um importante antiagregante plaquetário e vasodilatador; mas não inibe a síntese de TXA₂, que possui ação agregante plaquetário e vasoconstritora, potencializando o risco de complicações cardiovasculares (FITZGERALD, 2003; LÉRIAS, 2004). O meloxicam, caracterizado como bloqueador seletivo e específico da COX-2, em doses terapêuticas baixa inibe preferencialmente a COX-2 e tem demonstrado trazer menos efeitos adversos gastrointestinais do que o piroxicam, diclofenaco e naproxeno, e não interfere na função plaquetária, mesmo inibindo a síntese de TXA₂ (Quadro 1) (BORAZAN; FURST, 2017).

Quadro 1: Bloqueadores seletivos e específicos da COX-2

Bloqueadores seletivos e específicos da COX-2	
Derivado sulfonanilida	Nimesulida
Derivado oxicano	Meloxicam
Bloqueadores específicos da COX-2	
Sulfonamidas	Celecoxibe (Celebra®) Valdecoxibe (Bextra®)
Sulfonas	Eterocoxibe (Arcoxia®) Rofecoxibe (Vioxx®)*
Ácidos Fenilacéticos	Lumiracoxibe (Prexige®)
Outros	Paracoxibe (Dynastat®)

Fonte: Adaptado de Grosser *et al.*, 2016, p. 962. *retirado do mercado

Os efeitos adversos dos AINEs são muito semelhantes (BORAZAN; FURST, 2017), e esta classe de medicamentos são rotulados advertindo sobre os riscos cardiovasculares e os seus efeitos adversos (Quadro 2) (GROSSER *et al.*, 2016):

Quadro 2: Efeitos adversos dos AINEs:

Sistema acometido	Efeitos adversos
Sistema Nervoso Central (SNC)	Cefaleia Zumbido Vertigem Confusão Tontura Meningite asséptica*
Sistema Cardiovascular e sanguíneo (Hematológico)	Retenção hídrica Hipertensão Edema Inibição da ativação plaquetária Propensão a equimoses Maior risco de hemorragias ^a Menor eficácia dos medicamentos anti-hipertensivos Fechamento do canal arterial

	Acidente vascular encefálico ^b Trombose ^b Infarto do miocárdio* ^b Insuficiência cardíaca congestiva* Trombocitopenia* Neutropenia* Anemia aplástica* ^a
Sistema Digestório (Gastrointestinal e Hepático)	Dor abdominal Displasia Náuseas Diarréia Anorexia Perfuração/obstrução Vômitos Úlceras* ^a Sangramentos* ^a Alteração da função hepática* Insuficiência hepática*
Sistema Respiratório (pulmonar)	Asma
Sistema Tegumentar (cutâneo)	Exantemas Prurido
Sistema Urinário (Renal)	Insuficiência renal Falência renal Hiperpotassemia Proteinúria Menor eficácia dos diuréticos
Sistema reprodutor	Prolongamento da gestação Inibição da parturição
Sistema imunológico/hipersensibilidade	Rinite vasomotora Edema angioneurótico Asma Urticária Rubor Hipotensão Choque

*raramente

^a – efeitos reduzidos ao utilizar AINEs seletivos para COX-2

^b – com exceção de baixa dose de ácido acetilsalicílico

Fonte: Adaptado de Borazan; Furst, 2017, p. 620, 621 e Grosser *et al.*, 2016, p.973.

Assim, a escolha do AINEs deve considerar a sua toxicidade e o custo-benefício, uma vez que sua eficácia é muito semelhante. Os inibidores não seletivos para COX menos tóxicos são o salsalato, o ácido acetilsalicílico e o ibuprofeno; e os que demonstraram maior toxicidade são a indometacina e a tolmetina. Além disto, os fatores pessoais como a sensibilidade, doenças pré-existentes, associação de drogas e adesão ao tratamento também devem ser consideradas, principalmente por poder potencializar os efeitos adversos dos medicamentos. Assim, a indicação do AINEs é muito particular e pessoal, não existindo uma indicação geral para todos os pacientes (BORAZAN; FURST, 2017).

2.3.2 Anti-inflamatórios esteroidais (AIEs)

Os anti-inflamatórios esteroidais (AIEs) ou hormonais conhecidos como corticosteróides, são potentes anti-inflamatórios, imunomodulatórios e antineoplásicas frequentemente prescritos nos tratamentos de doenças inflamatórias agudas ou crônicas,

alérgicas e hematológicas (KASSUYA, 2013), como doenças autoimunes, reações alérgicas, crises asmática, doença pulmonar obstrutiva crônica e algumas neoplasias (RICE *et al.*, 2017), distúrbios suprarrenais e renais, distúrbios vasculares do colágeno, patologias oculares, gastrointestinais, neurológica, de pele, da tireóide, algumas infecções, inflamações articulares e ósseas, náuseas e vômitos, transplante, dentre outras (CHROUSOS *et al.*, 2017). Os AIEs são utilizados por 60 a 70% dos pacientes com AR, com eficácia na inflamação e imunossupressão, e com a capacidade de retardar o aparecimento das erosões ósseas. A prednisona de liberação tardia é um dos AIEs que tem sido recomendado para o tratamento da rigidez matinal e dor por mimetizarem o ritmo circadiano (BORAZAN; FURST, 2017).

Os corticosteróides sintéticos são produzidos utilizando como matéria prima o ácido cólico de origem bovina ou de sapogeninas esteróides provenientes de plantas e mineralocorticóides, com modificações que deram origem a uma grande variedade de medicamentos que diferem entre si quanto à atividade anti-inflamatória, tópica e a retenção de sal, parâmetros estes que devem ser considerados na sua prescrição (CHROUSOS *et al.*, 2017) (Quadro 3) :

Quadro 3: Relação de fármacos corticosteróides sintéticos e a potência / atividade relativa à hidrocortisona

Fármaco	Atividade Anti-inflamatória
Hidrocortisona (cortisol)	1
Cortisona	0,8
Prednisona	4
Prednisolona	5
Metilprednisolona	5
Meprednisona	5
Triancinolona	5
Parametasona	10
Fluprednisolona	15
Betametasona	25-40
Dexametasona	30
Fludrocortisona	10
Acetato de desoxicorticosterona	0

Fonte: Adaptado de Chrousos *et al.*, 2017, p. 686

Os AIEs inibem a expressão das substâncias inflamatórias e nociceptivas, ativam a transcrição de substâncias anti-inflamatórias ou promovem a redução da transcrição gênica que são capazes de codificar COX-2, fosfolipase A2, citocinas pro-inflamatórias, como por exemplo: IL-1, TNF e iNOS (CHROUSOS *et al.*, 2017).

Contudo, embora os AIEs tenham diversas vantagens, como o baixo custo e grande efetividade, a sua utilização prolongada está associada aos efeitos adversos indesejáveis e à

toxicidade. Uma das estratégias utilizadas com o propósito de minimizar estes efeitos é a redução da dose; no entanto, muitos efeitos adversos ainda tem sido relatados como: catarata, náusea e vômito, distúrbios gastrointestinais, fratura ou osteoporose, condição cardíaca, diabetes tipo 2 e hiperglicemia, hipertensão arterial (RICE *et al.*, 2017), ganho de peso, dificuldade em dormir, glaucoma, alterações de humor, disfunção tireoidiana, impotência, redução da imunidade (MONEY, 2017), dislipidemia, síndrome metabólica, comprometimento do crescimento em crianças, miopatia proximal, hipogonadismo e subfertilidade ou infertilidade, predisposição a infecções cutâneas e sistêmicas, nefrolitíase, atrofia cutânea, equimoses, estrias, hiperpigmentação, alopecia, hirsutismo, hipertricose, má cicatrização, acne, síndromes neuropsiquiátricas, declínio cognitivo e na qualidade de vida, trombose venosa profunda e embolia, insuficiência adrenal, dentre outras (UWAIFO; HURA, 2020).

A utilização de AIEs por tempo prolongado no tratamento da artrite e / ou artrose é comum; mas interfere na renovação óssea e nos níveis de cálcio e pode promover necrose avascular óssea, fratura (MONEY, 2017), osteopenia e osteoporose afetando principalmente os quadris (UWAIFO; HURA, 2020).

Além disto, a utilização sistêmica por longo período de cortisol exógeno por via oral ou parenteral pode ser a causa da Síndrome de Cushing iatrogênica, que é o conjunto de sinais e sintomas clínicos (UWAIFO; HURA, 2020), caracterizados por face de lua cheia, redistribuição da gordura corporal e do crescimento de pêlos, acne pontilhada, insônia e aumento de apetite, hiperglicemia, diabetes, dificuldade de cicatrização, alteração de peso e gordura visceral, miopatias e perda muscular, adelgaçamento da pele e estrias atróficas e equimoses, osteoporose e necrose asséptica do quadril (CHROUSOS *et al.*, 2017). Contudo, já foi relatado os efeitos adversos sistêmicos da utilização tópica de esteróides (ALKHUDER; MAWLAWI, 2019), e mais recentemente também por uso oftalmológico (ÜSTYOL *et al.*, 2017; JINAGAL *et al.*, 2019) e intranasal (DURSUN; KIRMIZIBEKMEZ, 2016), principalmente em crianças.

Por outro lado, a redução rápida da dose pode ocasionar o retorno da doença, anorexia, náuseas, vômitos, perda de peso, letargia, cefaleia, artralgia, mialgia e hipotensão postural. Por conseguinte, cuidados especiais devem ser tomados ao usar os AIEs, pois é necessária precaução quanto ao desenvolvimento dos efeitos adversos já relatados. Além disto, exige-se cautela adicional e/ou contraindicações para pacientes com úlcera péptica, doença cardíaca associada ou não a hipotensão, algumas doenças como varicela, tuberculose, diabetes, psicose, osteoporose ou glaucoma (CHROUSOS *et al.*, 2017).

2.3.3 Fármacos antirreumáticos modificadores da doença (DMARDs)

O tratamento farmacológico da AR, uma doença autoimune, inclui o alívio dos sintomas com a utilização de AIEs por curto período ou de AINEs; no entanto, embora esta classe de medicamentos tenha importante efeito anti-inflamatório, não impedem as deformidades articulares (GROSSER *et al.*, 2016). Os fármacos antirreumáticos modificadores da doença (FARMDS) também conhecidos como *disease-modifying anti-rheumatic drugs* (DMARDs) são agentes biológicos (bDMARDs), não biológicos/sintéticos (csDMARDs) ou com alvo sintético (tsDMARD) capazes de deter ou retardar a progressão da doença promovendo modificações no seu curso. Os agentes biológicos são moléculas, geralmente de proteínas, produzidos com a tecnologia do DNA recombinante, enquanto os não biológicos são pequenas moléculas (Quadro 4) (GROSSER *et al.*, 2016; BORAZAN; FURST, 2017):

Quadro 4: Agentes modificadores da doença (DMARDs)

Tipo de DMARDs	Nome comercial	Mecanismo de ação
Agentes biológicos (bDMARDs)	Abatacepte*	Modulador das células T
	Rituximabe*	Citotóxico das células B
	Tocilizumabe*	Antirreceptor de IL-6, ou seja, liga-se aos receptores de IL-6 e inibe a sinalização mediada pela IL-6 por meio destes receptores
	Anacenza**	Inibidores da IL-1
	Rinolacepte	
	Canacinumabe	
	Adalimumabe* Certolizumabe* Etenercepte* Golimumabe* Infliximabe*	Bloqueadores do TNF- α Podem ser utilizado concomitante ao Metotrexano
Belimumabe	Tratamento de Lupus Eritematoso Sistêmico	
Agentes não biológicos/sintéticos (csDMARDs)	Metotrexano*	Supressão das funções de neutrófilos, macrófagos, células dendríticas e linfócitos
	Azatioprina*	Suprime a função de células T, B, e a produção de imunoglobulinas e secreção de IL-2
	Cloroquina e Hidroxicloroquina**	Supressão da resposta dos linfócitos T
	Ciclofosfamida	Suprime as células T e células B
	Ciclosporina*	Inibe a produção de receptores de IL-1 e IL-2, conseqüentemente inibe a interação entre macrófagos e células T e suas respostas
	Leflunomida*	Inibe a proliferação das células T e reduz a síntese de autoanticorpos pelas células B
	Micofenolato mofetila**	de Suprime a proliferação de linfócitos T e B
	Sulfasalazina*	In vitro: Supressão da resposta da célula T à concanavalina e inibição da proliferação das células B; inibição da liberação de citocinas inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-12 e TNF- α)

Tofacinibe*	Influência na transcrição de genes que interferem na diferenciação, proliferação e função das células NK, linfócitos T e B. Reduz PC-R Para pacientes que não responderam ao metotrexano
Sais de ouro	Não mais recomendado

*indicações para o tratamento de artrite reumatóide

**embora indicados não têm muita eficácia

Fonte: Adaptado de Borazan; Furst, 2017, p. 625.

Os agentes bloqueadores do TNF apresentam efeitos adversos importantes, dentre eles o risco de infecção bacteriana de dependentes de macrófagos como a tuberculose, fúngicas, hepatite B viral e outras infecções oportunistas. Desta forma, a triagem para tuberculose latente ou ativa e de hepatite B viral é necessária antes de iniciar o tratamento com esta classe de medicamentos. Além disto, aumenta o risco de câncer de pele, pode exacerbar a insuficiência cardíaca, reações locais, alopecia, hipertricrose, líquen plano erosivo, aumento do risco de úlceras gastrointestinais, perfuração do intestino grosso e diverticular e do apêndice, e o organismo pode desenvolver anticorpos contra o fármaco, além de efeitos menos comuns como pneumonia, psoríase, leucopenia, neutropenia, trombocitopenia, pancitopenia, pseudolinfomas dentre outros. Já os inibidores de IL-1 têm efeitos menos graves como reações locais, infecções das vias aéreas superiores, cefaléia, dor abdominal, náuseas e diarreia, artralgia e neutropenia transitória (BORAZAN; FURST, 2017).

2.4 Tratamento de artrite

O tratamento de AR objetiva o controle da doença, a regressão das limitações funcionais assim como a prevenção de complicações e os danos estruturais, a melhora da qualidade de vida e o aumento da sobrevida (BRASIL, 2017). As estratégias terapêuticas atuais são mais eficazes e podem contribuir com a remissão da doença e prevenir as deformidades. Medidas clínicas devem ser consideradas nas tomadas de decisões, além da escolha das drogas terapêuticas. As recomendações internacionais do tratamento de AR são constantemente atualizadas, e em 2014 foi proposta uma reformulação da recomendação de 2010 (SMOLEN *et al.*, 2015).

As recomendações atualizadas de 2014 para as medidas clínicas no tratamento da AR tem como principal objetivo a remissão clínica, ou seja, ausência de sinais e sintomas da doença inflamatória; no entanto, a baixa atividade da doença é aceitável para doença crônica. A atividade da doença e a meta devem ser mensuradas considerando as comorbidades e os fatores de risco relacionados aos medicamentos e registradas regularmente: mensal (para os

pacientes com grau moderado/alto) e semestralmente para os pacientes com grau leve ou em remissão; da mesma forma, a terapia medicamentosa deve ser ajustada trimestralmente até que os objetivos sejam atingidos. O paciente também deve ser incluído nas tomadas de decisões e orientações sobre o seu tratamento, e as decisões clínicas, devem considerar as alterações estruturais-funcionais e as comorbidades (SMOLEN *et al.*, 2015).

Os medicamentos mais utilizados pelos pacientes com AR são: abatacepte, adalimumabe e etanercepte e o uso concomitante de MTX foi associado a maior persistência. Outros fatores que podem influenciar na adesão e na persistência da assistência médica/farmacológica, são o alto custo dos medicamentos e a sua eficácia (KHILFEH *et al.*, 2019) (Tabela 7).

Tabela 7: Principais alvos de fármacos utilizados no tratamento ou investigação da AR:

Alvo	Droga	Mecanismo de ação
TNF	Adalimumab	Reduz ativação endotelial de células estromais e condrócitos
	Etanercept	Reduz diferenciação/ativação de osteoclastos
	Golimumab	Modifica migração celular
	Certolizumab	Reduz expressão de citocinas e.x IL-6
	Infliximab	Redução do risco metabólico/CVD
	Biossimilares	
IL-6	Tocilizumab	Reduz ativação endotelial de células estromais
	Múltipla Ab no desenvolvimento	Reduz ativação de osteoclastos
		Reduz expressão de citocinas/quimiocinas
		Altera metabolismo lipídico
Coestimulador (CD28 – CD80/86)	Abatacept	Reduz ativação de células T Diminuição da ativação de células dendríticas, produção de citocinas e apresentação de antígenos Reduz ativação de osteoclastos
Célula B depleção (anti-CD20)	Rituximab	Depleção de linhagens celulares CD20 + B, poupando células plasmáticas. Reduz produção de citocinas Reduz apresentação de antígenos
Inibidor JAK	Tofacitinibe	Inibição de receptores essenciais de citocinas com efeitos previsíveis a jusante. JAK1, JAK2 e JAK3 até agora segmentados
	Baricitinibe	
	Vários compostos no desenvolvimento	
IL-1	Anakinra	Diminuição da ativação das células estromais das células endoteliais Diminui migração celular Altera diferenciação de células T Ativação da imunidade inata
Outras citocinas (GM-CSF, IL-17 e outras)	Múltiplo	Múltiplo

Fonte: Adaptado de Firestein; Mcinnes, 2017, p.28.

Em substituição aos inibidores da síntese de PG, medicação sintomática para dor e edema, e aos AIEs, tem sido recomendada a utilização do MTX, antagonista do ácido fólico, que é um dos DMARDs, csDMARDs ou bDMARDs, com baixas doses de AIEs, por promover a diminuição da sinovite e da inflamação sistêmica, incapacidade para o trabalho, deformidades e progressão do dano articular (VAN DER HEIDE *et al.*, 1996; ; PINCUS *et*

al., 2003; BIJLSMA *et al.*, 2007; SMOLEN *et al.*, 2013); contudo, o uso do MTX associado ou não a outras drogas, pode aumentar o risco de infecções, o que limita o seu uso em alguns casos.

Os anticorpos anti-TNF ou anti-IL-6 também tem sido uma opção terapêutica para a AR, embora nem todos os pacientes tenham resposta eficaz a essas terapias (SMOLEN *et al.*, 2018). O EULAR 2013 faz algumas recomendações dentre elas de que a decisão sobre o tratamento deve ser tomada entre o paciente e o reumatologista, profissional recomendado para o tratamento da AR, considerando os altos custos pessoais, sociais e médicos (SMOLEN *et al.*, 2013).

Para a utilização dos DMARDs no tratamento da AR deve-se considerar: a utilização DMARDs logo que a AR seja diagnosticada; o MTX é a droga de primeira escolha mas em caso de contraindicação ou intolerância, a sulfassalazina ou a leflunomida devem ser consideradas; a monoterapia ou combinada de csDMARDs são as recomendadas para os pacientes que ainda não fizeram uso de DMARD, e os glicocorticoides em baixas doses são uma opção de associação aos DMARD no início, por até 6 meses, mas pelo menor tempo possível. Se esta estratégia não trazer os resultados esperados, deve-se considerar um bDMARD (inibidores do TNF, abatacept, tocilizumab e rituximab) com MTX; se mesmo assim o resultado não for satisfatório, substituir por outro bDMARD com outro mecanismo de ação; o tofacitinib é uma opção quando não há resposta ao tratamento biológico; o paciente com remissão sustentada a longo prazo, pode ter a sua dose reduzida; assim, a atividade, progressão das deformidades e alterações morfológicas, comorbidades e efeitos adversos e contra-indicações devem ser considerados (SMOLEN *et al.*, 2013).

A PORTARIA CONJUNTA Nº 15, DE 11 DE DEZEMBRO DE 2017 determina o protocolo clínico e as diretrizes terapêuticas da AR (BRASIL, 2017) e o Consenso 2017 as recomendações da Sociedade Brasileira de Reumatologia para o tratamento da AR (MOTA *et al.*, 2018). Os tratamentos dos pacientes com AR devem consistir de uma abordagem multidisciplinar, composta por médico, fisioterapeuta, terapeuta ocupacional, psicólogo e nutricionista, dentre outros; o paciente deve ser orientado quanto aos hábitos de vida (evitar o fumo, a ingestão excessiva de álcool, a obesidade e o sedentarismo), controle das comorbidades (hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, dislipidemias e osteoporose) e atualizações vacinais, preferencialmente antes de iniciado o tratamento; as decisões terapêuticas devem ser compartilhadas entre o paciente e o médico; assim como os pacientes devem ser informados sobre a natureza e o prognóstico da doença, sobre as terapêuticas disponíveis, seus benefícios e efeitos adversos; o objetivo do tratamento é a remissão clínica

sustentada e/ou a baixa atividade da doença e, a longo prazo, a evolução clínica, estrutural e funcional; o monitoramento clínico, laboratorial e de imagem devem ser regulares (na fase inicial, primeiros seis meses, ou com atividade inflamatória significativa, o acompanhamento deve ser mensal) (MOTA *et al.*, 2018). Estas diretrizes sugerem que sejam adotados os critérios de inclusão para o tratamento a ACR de 1987, por ser ainda o mais utilizado, e o ACR de 2010, por ser mais sensível aos casos iniciais; e os critérios de exclusão para o uso de medicamentos preconizados no protocolo os pacientes com contraindicações absolutas (BRASIL, 2017).

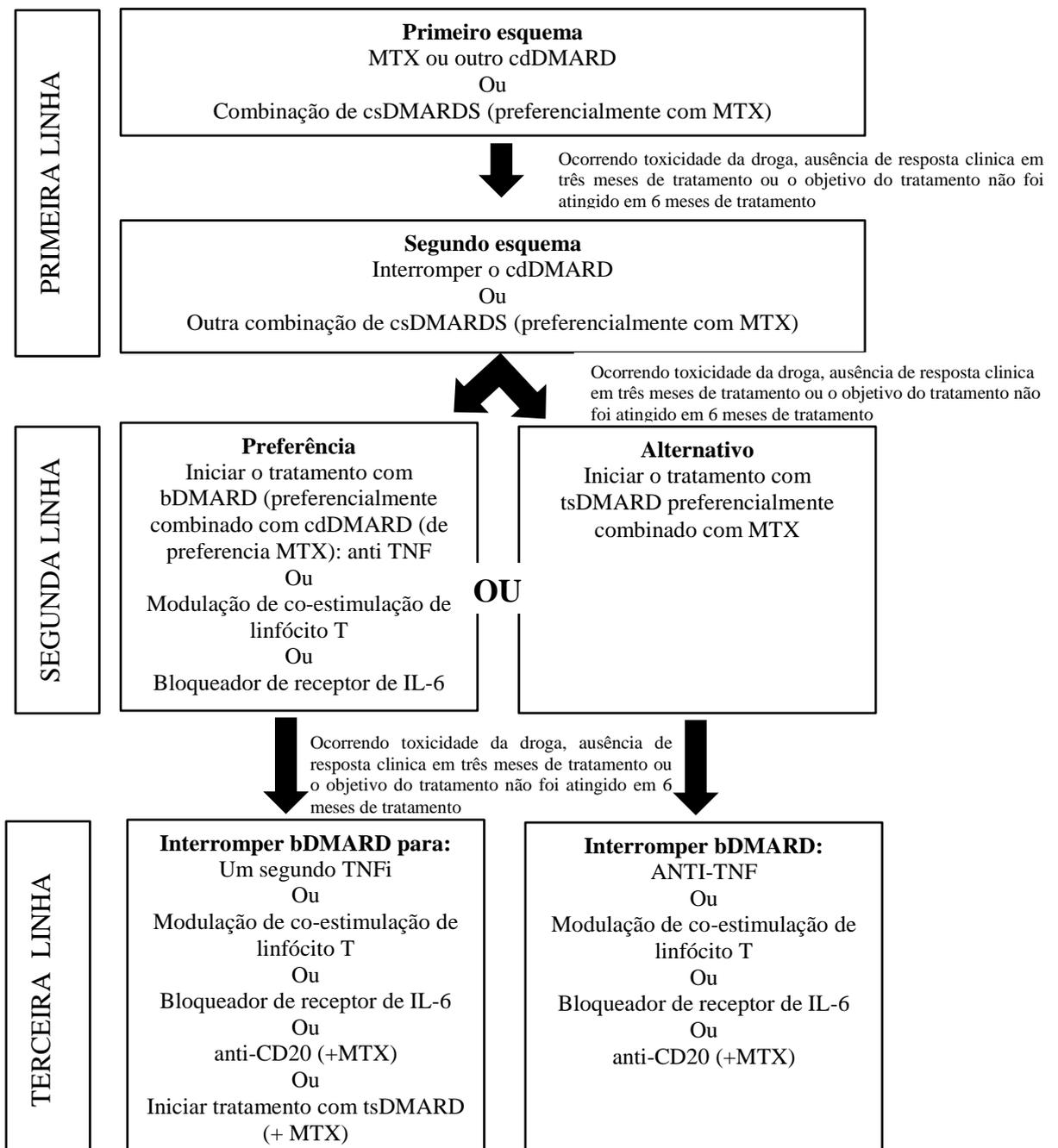
Os quatro princípios gerais da recomendação 2017 da Sociedade Brasileira de Reumatologia sobre o tratamento farmacológico da AR inclui: a abordagem multidisciplinar coordenada por reumatologista; orientações sobre os hábitos de vida, controle das comorbidades e registro de vacinação atualizado; as decisões devem ser compartilhadas pelo paciente e pelo médico após esclarecimentos sobre a doença e as opções terapêuticas disponíveis; a remissão clínica sustentada ou a baixa atividade da doença são alvos da terapêutica. A primeira linha de tratamento deve ser o csDMARD, assim que definido o diagnóstico MTX é o csDMARD de primeira escolha e a combinação de dois ou mais csDMARDs, incluindo MTX, pode ser utilizada como primeira opção de medicamentos - se a da terapia de primeira escolha não for eficiente, recomenda-se combinação de MTX com outro csDMARD (leflunomida), com dois csDMARDs (hidroxicloroquina e sulfasalazina) ou troca de MTX por outro csDMARD (leflunomida ou sulfasalazina) isolado); caso a terapia com csDMARDs não for eficaz, pode ser utilizado um bDMARD ou, alternado com um alvo sintético tsDMARD, combinado, com um csDMARD; os bDMARDs, em combinação com o MTX têm resultados semelhantes, assim, a escolha terapêutica deve considerar a segurança e o custo destes medicamentos; a associação do bDMARD com o MTX é melhor do que o uso isolado do bDMARD; caso não se obtenha sucesso no tratamento com um bDMARD, outro bDMARD pode ser adotado; em casos de falha com um TNFi, um segundo bDMARD da mesma classe ou com outro mecanismo de ação pode ser eficaz; caso não se obtenha resultado com o bDMARD, o tofacitinibe pode ser a próxima escolha; corticosteroides em baixas doses e curto período podem ser opção nos períodos de atividade da doença, mas a relação risco-benefício deve ser considerada; em pacientes em remissão sustentada, pode-se reduzir ou aumentar o intervalo entre as doses de bDMARD (MOTA *et al.*, 2018) (Quadro 5) (Figura 3).

Quadro 5: Fármacos utilizados no tratamento da artrite reumatóide

Classe	Fármaco
Anti-inflamatórios não esteroidais (AINE)	Ibuprofeno (comprimido ou solução oral) Naproxeno (comprimido)
Glicocorticóides	Medilprednisolona (acetato – intra-articular)

	Medilprednisolona (succitanato – intravenoso) Prednisona (comprimido ou solução oral)
Medicamentos modificadores do curso da doença – sintéticos	Metotrexato (comprimidos ou frascos) Sulfasalazina (comprimidos) Leflunomida (comprimidos) Hidroxicloroquina (comprimidos) Cloroquina (comprimidos ou cápsulas) Tofacitinibe (comprimidos)
Medicamentos modificadores do curso da doença – biológicos	Adalimumabe (seringas preenchidas) Certolizumabe pegol (seringas preenchidas) Etanercepte (frascos-ampola ou seringas preenchidas) Infliximabe (frascos-ampola) Golimumabe (seringas preenchidas) Abatacepte (frascos-ampola ou seringa preenchida) Rituximabe (frascos-ampola) Tocilizumabe (frascos-ampola)
Imumossupressores	Ciclosporina (cápsulas ou solução oral) Ciclofosfamida (frascos-ampola) Azatioprina (comprimidos)

Fonte: Adaptado de Brasil, 2017, p.10.



<p>Em todas as fases pode ser utilizado: Prednisona ou equivalente (menor dose pelo menor tempo possível) Corticosteróides intra-articular; Analgésicos; AINEs</p>

Figura 3: Recomendações 2017 da Sociedade Brasileira de Reumatologia sobre o tratamento da AR
 Fonte: Adaptado de Mota *et al.*, 2018. p. 62

Estes fármacos utilizados no tratamento da AR trouxeram excelentes resultados modificando o curso da doença; entretanto, estes medicamentos possuem diversas contraindicações que devem ser consideradas antes da sua prescrição, sendo as mais comuns: hipersensibilidade ao medicamento, classe ou componentes; tuberculose sem tratamento; infecção bacteriana com indicação de uso de antibiótico; infecção fúngica ameaçadora à vida; infecção por herpes zoster ativa; hepatites B ou C aguda, podendo existir outras específicas para algum medicamento. Além disto, embora o tratamento para AR tenha avançado substancialmente na última década, os fármacos utilizados não estão isentos de efeitos adversos, que devem ser monitorados inicialmente a cada 1 a 3 meses, e após atingido o objetivo do tratamento com remissão ou redução da atividade, em intervalos de 6 a 12 meses, sendo os mais comuns: anemia, leucopenia ou trombocitopenia; elevação de Aspartato Aminotransferase/Transaminase glutâmico-oxalacética (AST/TGO), Alamina aminotransferase/Transaminase glutâmico-oxalacética (ALT/TGP) (BRASIL, 2017).

Embora o tratamento para AR tenha trazido resultados revolucionários, a completa remissão ainda é distante e insuficiente para se recuperar a qualidade plena de vida dos pacientes. Os impactos extra-articulares como a dor, a depressão, a ansiedade, a fadiga e a caquexia reumatóide são frequentes, e os tratamentos farmacológicos têm benefícios limitados e frequentemente são acompanhados de eventos adversos. A fisioterapia com recursos de cinesioterapia resistida e os exercícios aeróbios e a terapia ocupacional melhoram a qualidade de vida, a capacidade funcional e a dor (BRASIL, 2017). Avaliações e estratégias holísticas também podem contribuir com estes resultados. Além disto, as tecnologias digitais inovadoras (aplicativos que interagem diretamente com os serviços de saúde) estão mais acessíveis e podem monitorar os resultados relatados pelos pacientes entre as consultas clínicas, e incluí-los nos registros de prontuários eletrônicos destes pacientes (SCOTT *et al.*, 2018).

Os programas de educação são procedimentos fundamentais no atendimento multidisciplinar para portadores de doenças reumáticas e são constituídos de orientação sobre a condição da doença, os fatores biopsicossociais, condições concomitantes, opções de

controle da dor e o uso de medicamentos para o manejo dos sintomas. Além disto, o envolvimento do paciente e da família pode contribuir com a capacidade do paciente de autogerenciar a dor e reduzir o comprometimento da doença (CUNNINGHAM; KASHIKAR-ZUCK, 2013; BRASIL, 2017).

A depressão em pacientes com AR possui alta prevalência (38,8%)(MATCHAM *et al.*, 2013), assim como a ansiedade 13,5% (COVIC *et al.*, 2012) e estão associadas aos prognósticos e evoluções piores. Ao comparar à prevalência de depressão (3,3%) e de ansiedade (5,9%) na população geral adulta inglesa, é possível observar que os pacientes com AR são mais acometidos destes transtornos (NATCEN SOCIAL RESEARCH, 2014). Estes valores podem variar de acordo com a população estudada, o instrumento escolhido para avaliação e se está ou não associadas depressão e ansiedade. Os fatores relacionados com o início e a permanência da depressão incluem os fatores socioeconômicos (renda, nível de escolaridade, profissão), individuais/pessoais (gênero, etnia, comorbidades, mecanismos de enfrentamento e apoio social) e os próprios da doença (inflamação, atividade da doença, dor, limitações funcionais e quadro clínico) (MARGARETTEN *et al.*, 2011).

Além destes fatores, já é conhecido que a inflamação sistêmica pode ser associada à depressão, por mediação das citocinas pro-inflamatórias (SCHIEPERS *et al.*, 2005), os níveis séricos de IL-1 β , IL-6, IL-17 e TNF- α apresentam-se maiores em pacientes com AR quando comparado a pessoas saudáveis, assim como os níveis de ansiedade e depressão, e há evidências de que os níveis séricos de IL-6 e IL-17 elevados nestes pacientes induzem a artrite e causam sintomas de depressão (LI *et al.*, 2019). Estas citocinas podem interferir nos sistemas monoaminérgicos e glutaminérgicos, intensificando ainda mais a etiopatogenia da depressão; entretanto, não são todas as pessoas expostas aos altos níveis de citocinas inflamatórias que desenvolvem depressão (LOTRICH *et al.*, 2014). A Terapia Cognitivo Comportamental (TCC) e outras terapias psicológicas como o *biofeedback* e terapia de aceitação e compromisso (ACT) são recursos promissores no tratamento da dor. A TCC é uma intervenção estruturada de autogestão e enfrentamento uma vez que a dor persistente tem forte influência nos transtornos de humor e na ansiedade; por outro lado, o *biofeedback* pode adotar estratégias de relaxamento, enquanto a abordagem da terapia de aceitação e compromisso objetiva a redução da angústia diante da dor (CUNNINGHAM; KASHIKAR-ZUCK, 2013).

Neste aspecto, a atividade e os exercícios físicos aeróbicos e fisioterapia (alongamentos e condicionamento muscular) também são recomendados. Exercícios de flexibilidade que trabalham com amplitude de movimento podem reduzir a dor, a rigidez e a

falta de mobilidade; o exercício resistido pode amenizar os sintomas relacionados à diminuição da função muscular, e melhorar a estabilidade articular; enquanto o exercício aeróbico promove melhor condicionamento cardiovascular, resistência e melhora do funcionamento físico geral (CUNNINGHAM; KASHIKAR-ZUCK, 2013). O exercício contribui com a melhora da saúde geral e do bem-estar, com variações em tipo e intensidade. O treinamento aeróbico associado ao exercício de fortalecimento muscular é recomendado para pacientes com AR, por contribuir com a redução da dor (HURKMANS *et al.*, 2009); embora não haja evidências suficientes para concluir que a prática de atividade física tenha impacto nos níveis sistêmicos de marcadores inflamatórios da AR (BURGHARDT *et al.*, 2019).

A Medicina Complementar e Alternativa como acupuntura, dietas, produtos fitoterápicos, homeopatia, massagens, suplementos dietéticos demonstram resultados encorajadores, embora muitas delas ainda não possuam evidência clínica disponível; assim estas intervenções geralmente são utilizadas como complementar, e não como substituto da terapia convencional (SARZI-PUTTINI *et al.*, 2005).

Diante do exposto, a AR é uma doença autoimune, sistêmica, multifatorial que leva a comprometimentos articulares e sistêmicos. Mesmo com a evolução no tratamento da AR, os medicamentos atuais ainda possuem limitações por seus efeitos indesejáveis e por não promover uma resposta adequada em alguns pacientes. Assim, a associação com tratamentos não medicamentosos e fitoterápicos podem ser uma alternativa complementar no tratamento da AR.

2.5 Controle da inflamação da AR com planta medicinal: *Eriobotrya japonica* (*E. japonica*) Lindl

As plantas medicinais são importantes para a pesquisa farmacológica e também para o desenvolvimento de novos medicamentos, como agentes terapêuticos, material para a síntese de medicamentos ou modelos para a síntese de compostos farmacologicamente ativos (WHO, 1998). Cerca de 50% dos medicamentos aprovados durante as últimas décadas foram, de forma direta ou indireta, obtidos a partir de produtos naturais (NEWMAN; CRAGG, 2012). Além disto, os fitoterápicos geralmente possuem um grande número de ativos farmacológicos, com algumas vantagens: ser natural e conter múltiplos bioativos que podem obter efeito farmacodinâmico sinérgico e/ou aditivo (ZHANG, J. *et al.*, 2015).

As inflamações articulares têm como característica: aumento da inflamação, estresse oxidativo, alterações teciduais progressivas e incapacitantes. O tratamento convencional atual

que incluem os analgésicos, os anti-inflamatórios e os agentes sintéticos e biológicos tem trazido bons resultados; entretanto, é frequente estar acompanhado de efeitos adversos indesejáveis. Desta forma, ainda não existem medicamentos totalmente eficazes e seguros para o tratamento desta patologia, e, por conseguinte, a descoberta de novas estratégias para melhorar o tratamento desta afecção é de relevância. Assim, a utilização de plantas medicinais é uma opção terapêutica promissora, com menos efeitos adversos (DRAGOS *et al.*, 2017).

Vários extratos de plantas medicinais mostraram benefícios, com poucos efeitos adversos, em pacientes com artrite, dentre eles: *Arnica montana*, *Boswellia spp.*, *Curcuma spp.*, *Equisetum arvense*, *Harpagophytum procumbens*, *Salix spp.*, *Sesamum indicum*, *Symphytum officinalis*, *Zingiber officinalis*, *Panax notoginseng* e *Whitania somnifera* (DRAGOS *et al.*, 2017). Um estudo caso-controle demonstrou que 51,4% dos participantes do grupo AR utilizaram fitoterápicos como tomilho, camomila, borragem, lavanda, gengibre e canela, por seus efeitos anti-inflamatórios (RAMBOD *et al.*, 2018).

A *Eriobotrya japonica* (*E. japonica*) Lindl. é uma árvore frutífera pertencente à família *Rosaceae*, conhecida popularmente como *loquat*, e no Brasil como nespereira, ameixa japonesa ou ameixa amarela (SOUZA *et al.*, 2003). Esta planta possui muitas propriedades medicinais e é proveniente do sudeste da China onde é cultivada há mais de 2000 anos (LIU *et al.*, 2016). Atualmente também tem sido cultivada no Japão, na Espanha, na Índia, nos Estados Unidos, na Austrália, no Brasil (ZHOU *et al.*, 2007), na Turquia, no Paquistão, na Itália, em Israel (LIU *et al.*, 2016), no Sul da África (MAEMA *et al.*, 2016) e na Coreia (MAHER *et al.*, 2015). Possui folhas simples com aproximadamente 30 cm de comprimento por 10 cm de largura, alternas, lanceoladas, pecíolos curtos e ápice agudo, margens denteadas, limbo inteiro e textura coriácea e discolor, com a face adaxial verde-escuro brilhante e a face abaxial verde-claro e aveludado (SOUZA *et al.*, 2003). Seu fruto é arredondado, com casca fina amarelo-alaranjada, polpa branca ou alaranjada, contendo de 3 a 4 sementes (LIN; LIN, 2005) (Figura 4).



Figura 4: A) Árvore de *Eriobotrya japonica* (E. japônica) Lindl.; B) fruta; C) folha e flores

Os frutos da *E. japonica* são antioxidantes hidrofílicos, com vitamina C, fenólicos e carotenóides (ZHOU *et al.*, 2011) com atividade anti-inflamatória (TAKUMA *et al.*, 2008), hipolipemiante (SHIH *et al.*, 2010) e ajuda na reversão da resistência a medicamentos utilizados no tratamento de câncer de cólon humano e leucemia (ZHOU; WINK, 2018), e o seu extrato etanólico e aquoso podem inibir a proliferação e a invasão de células tumorais (YOU *et al.*, 2016). O extrato da semente possui atividade anti-inflamatória demonstrada em modelos de dermatite (SUN *et al.*, 2010), ação antienvhecimento (MURAMOTO *et al.*, 2011), inibe a esteato-hepatite não alcoólica (YOSHIOKA *et al.*, 2010) e pode reduzir o estresse oxidativo na nefropatia (HAMADA *et al.*, 2004). As flores são ricas em flavonóides e compostos fenólicos, e os seus extratos metanólicos e etanólicos apresentaram alta capacidade antioxidante (ZHOU *et al.*, 2011).

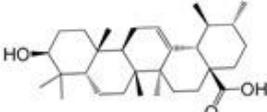
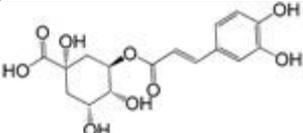
As folhas de *E. japonica* são utilizadas há milhares de anos na medicina chinesa, e é tradicionalmente usada para tratar a inflamação (ITO *et al.*, 2000; CHA *et al.*, 2011; CHINESE PHARMACOPOEIA COMMITTEE, 2010), tosse, bronquite crônica e câncer e tem demonstrado possuir atividade anti-inflamatória, anti-diabética, anti-tumoral, antioxidante (LIU *et al.*, 2016) e anti-hipertensiva (MAEMA *et al.*, 2016). O chá da folha da *E. japonica* é muito aplicado na medicina popular no tratamento da inflamação. Experimentalmente, o chá de folhas reduziu a obesidade e a hiperlipidemia (TANAKA *et al.*,

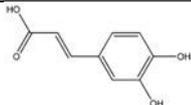
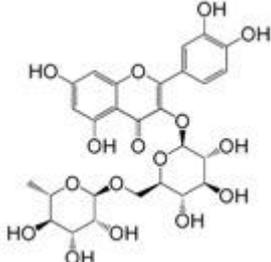
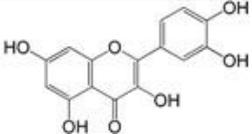
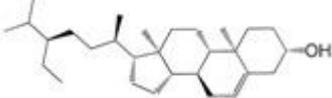
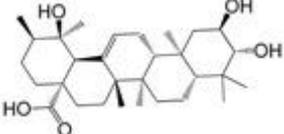
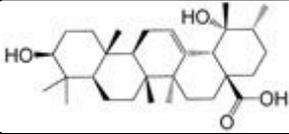
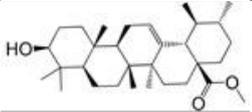
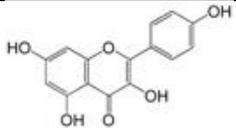
2010), apresentou atividade antioxidante e suprimiu a produção de mediadores inflamatórios e inibiu o edema de pata em camundongos (ZAR *et al.*, 2014), com potencial no tratamento da artrite (SIMMONDS; PREEDY, 2016); no entanto, não há estudos experimentais demonstrando essas propriedades na AR (ZHANG, J. *et al.*, 2015).

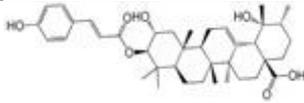
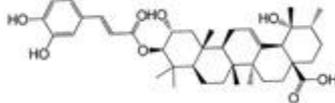
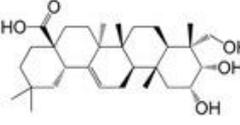
O extrato das folhas é amplamente estudado, por possuir efeitos imunomoduladores benéficos e anti-inflamatórios (KIM *et al.*, 2016). O extrato aquoso das folhas de *E. japonica* possui efeitos cardioprotetores, contra a apoptose cardíaca e a fibrose induzidas em ratos hipertensos (CHIANG *et al.*, 2018), além de propriedades antialérgicas (KIM; SHIN, 2009). O extrato etanólico demonstrou ter ação neuroprotetora e na inibição do desenvolvimento de câncer de mama (KIM, M.S. *et al.*, 2011). O extrato metanólico teve efeito hepatoprotetor (SHAHAT *et al.*, 2018). Da mesma forma, o extrato butanólico apresentou atividade anti-inflamatória e anti-nociceptiva no teste de contorção induzida por ácido acético e teste de formalina (CHA *et al.*, 2011).

Estudos evidenciaram os constituintes farmacológicos ativos na composição da *E. japonica*. As flores e os frutos são ricos em composto fenólicos e terpenos (ZHOU *et al.*, 2007; FU *et al.*, 2012; ZHANG, W. *et al.*, 2015). Já foram identificados 389 compostos da folha de *E. japonica*. Destes, 134 constituintes tem o limiar de dose letal (DL) satisfatório, maior ou igual a 0,18; 61 apresentam biodisponibilidade oral adequada maior ou igual a 30%; 26 compostos tem alta biodisponibilidade oral (BO) e a DL encontram-se de acordo com a exigência da taxa de absorção através da barreira epitelial intestinal maior ou igual a – 0,4. Portanto, 29 compostos podem ser considerados ingredientes ativos potenciais, destes, 19 foram validados experimentalmente com diversas bioatividades, e dos 19 ingredientes ativos, 15 compostos são classificados principalmente como ácidos triterpenos e flavonóides e exibem atividade anti-inflamatória (Tabela 8). Assim, podemos deduzir que *E. japonica* possui grande possibilidade de se tornar candidato a novo medicamento (ZHANG, J. *et al.*, 2015).

Tabela 8: Compostos identificados da folha de *E. japonica* com propriedades anti-inflamatórias

Composto	Estrutura	Biodisponibilidade Oral (%)	Permeabilidade Intestinal	Dose Letal
Ácido ursólico		9,95	0,79	0,66
Ácido clorogênico		63,12	- 1,07	0,33

Ácido Cafeico		51,08	0,24	0,05
Rutina		35,45	- 1,91	0,28
Quercetina		31,36	0,02	0,28
β -sitosterol		45,04	1,33	0,75
Ácido tormentico		33,73	-0,20	0,71
Ácido pomólico		75,45	0,26	0,73
Ácido oleanólico		66,91	0,61	0,76
Metil ursolato		47,63	0,92	0,74
Metil arjunolato		56,25	-0,05	0,70
Ácido maslínico		55,84	0,04	0,74
kaempferol		65,70	0,27	0,24

3- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -ácido coumaroyl tormentico		46,94	-0,17	0,34
3- <i>O</i> - <i>cis</i> - <i>p</i> -ácido coumaroyl tormentico		33,35	-0,19	0,34
2 α ,3 α ,23-ácido trihydroxy oleanólico -12-enoico-28		41,34	-0,27	0,72

Fonte: adaptado de Zhang, J. *et al.*, 2015, p.2919-2921.

O óleo essencial extraído das folhas é constituído essencialmente por ácido hexadecanólico, octadecatrienol, (E) nerolidol e (+)-carvone (TAI *et al.*, 2008). Os extratos obtidos apresentam maiores proporções de ácido clorogênico, quercetina-3-sambubioside e ácido ursólico (JUNG *et al.*, 1999), ácido ursólico, ácido corosólico e ácido oleanólico (BANNO *et al.*, 2005). A cromatografia líquida de alta eficiência, ou *High performance liquid chromatography* (HPLC), de fase inversa reparativa dessas frações produziu e identificou dezesseis ácidos triterpênicos: ácido oleanólico (1; 2,7% na fração solúvel em acetato de etila - EtOAc), ácido maslínico (2; 1,7%), arjunolato de metilo (3; 0,2%), ácido 2 α , 3 α , 23-tri-hidroxiolcano-12-en-28-oico (4, 1,3%), ácido d-oleanólico (5; 0,1%), ácido ursólico (6; 9,7%), ursolato de metilo (7; 0,2%), ácido corosólico (8; 4,4%), ácido 3-*O*-*cis*-*p*-cumaroyltormentico (9; 0,8%), 3-*O*-*trans*-*p*-cumaroyltormentic ácido (10; 4,0%), ácido 3-epicorosólico (11; 0,2%), ácido euscágico (12; 4,9%), ácido 1b-hidroxi eucáxico (13; 2,9%), lactona de ácido ursólico (14; 0,1%), ácido betulínico (15; 0,1%) e betulinato de metilo (16; 0,1%) (BANNO *et al.*, 2005).

O ácido ursólico tem um baixo valor previsto de BO (aproximadamente 10%), devido à sua fraca solubilidade; no entanto, o conteúdo de ácido ursólico na folha de *E. japonica* (7,57 mg/g) compensa a sua baixa BO e assegurando os seus efeitos anti-inflamatórios e anti-hiperlipidêmicos. O ácido clorogênico tem ação anti-inflamatória, sua permeabilidade é muito baixa, porém pode ser hidrolisado em ácido cafeico, e ser eficientemente absorvido. Desta forma, o ácido cafeico também deve ser considerado como um ingrediente ativo, apesar de possuir uma DL baixa (0,05). Da mesma forma, a rutina também tem baixa permeabilidade (-1,91) mas o seu metabólito quercetina (permeabilidade de 0,02) pode atravessar a barreira do cólon aumentando a sua absorção (ZHANG, J. *et al.*, 2015).

Várias atividades biológicas foram identificadas em compostos químicos, como os triterpenos, sesquiterpenos, flavonóides, taninos e glicosídeos megastigmane, encontrados nas folhas, como por exemplo: anti-inflamatória, antiviral, antioxidante, antimutagênico, antitumoral, citotóxicos e hipoglicêmico (BANNO *et al.*, 2005).

Os glicosídeos sesquiterpênicos totais (JIAN *et al.*, 2017) e os flavonóides totais (JIAN *et al.*, 2018) derivados da folha de nêspera reduziram a esteatose hepática não alcoólica. O ácido corosólico isolado de folhas reduz o nível de glicose em células humanas de carcinoma hepatocelular (XU *et al.*, 2019). Os glicosídeos sesquiterpênicos totais associados ao ácido ferúlico demonstrou ação antitrombótica (LEE *et al.*, 2004). Os ácidos triterpênicos das folhas de *E. japonica* (Thunb.) apresentaram efeitos profiláticos e antifibróticos na fibrose pulmonar induzida por bleomicina (YANG *et al.*, 2012), antitumoral (BANNO *et al.*, 2005), anti-inflamatórias em modelos de bronquite crônica (HUANG *et al.*, 2007; 2009) e protetora da pele, dentre elas a inibição da melanogênese, antiacne, antialérgica, e estimula a produção de colágeno e do ácido hialurônico (TAN *et al.*, 2017). A composição triterpenóide de folhas de nespereira tem um efeito significativo de elastase neutrofílica humana *in vitro* e um efeito terapêutico na inflamação induzida por Lipopolissacarídeo (LPS); entretanto, em ambos os efeitos a composição triterpenóide de folhas são mais eficientes que o ácido ursólico, este fato pode ser porque a absorção de triterpenóides pentacíclicos em composição triterpenoide de folhas de nespereira pode ser melhor (ZHANG *et al.*, 2019).

Embora o ácido ursólico isolado das folhas tenha demonstrado inibir a diferenciação dos osteoclastos responsáveis pela reabsorção óssea e osteoporose (TAN *et al.*, 2019), 11 triterpenóides da folhas de *E. japonica* mostraram efeitos potentes de antiosteoclastogênese, dentre eles o ácido pomólico que apresentou atividade inibitória mais potente do que o ácido ursólico (TAN *et al.*, 2015). Este aspecto é relevante para a prevenção da osteoporose, assim como das deformidades da AR, que tem como uma das suas características a intensa atividade osteoclástica articular.

Existem 53 alvos que estão relacionados à inflamação. Destes, 43 alvos podem se ligar a 11 compostos da folha de *E. japonica* que possui propriedade anti-inflamatória. Seis destes alvos (COX2, COX1, ALOX5, ICAM1 e PPARg-PPARd) demonstraram a similaridade da *E. japonica* com os nossos medicamentos anti-inflamatórios ocidentais. As citocinas pró-inflamatórias (TNF, IL1A, IL1B, IL2, IL5 e IL8) e anti-inflamatórias (IL4 e IL10) podem ser reguladas por *E. japonica* (ZHANG, J. *et al.*, 2015). Da mesma forma, a supressão da liberação de mediadores de inflamação, como a prostaglandina E2 (PGE2) e

COX-2 (SETTY; SIGAL, 2005), da síntese de NO e de iNOS (MATALKA *et al.*, 2007) via inibição da expressão de NF- κ B e translocação nuclear (ZHOU; WINK, 2019), pode reduzir o edema.

A enzima COX-1, presente nos tecidos normais, mantém a integridade e homeostase função renal e da mucosa gástrica; já a COX-2, predominante no tecido com inflamação, aumenta a produção de PG (SEIBERT *et al.*, 1997). Entretanto, as interações com vários alvos podem reduzir os efeitos adversos da *E. japonica*, por ter relação com outros alvos como a proteinoquinase ativada por mitógenos (MAPK14), receptores gama ativados da proliferação de peroxissomos (PPARG), gene RelA, TNF, MAPK8, heme oxigenase (HMOX-1) e quimiocina com motivo C-X-C 10 (CXCL10) e, associadas a COX1, podem compensar os efeitos gastrointestinais (ZHANG, J. *et al.*, 2015).

Embora o consumo de plantas medicinais seja uma prática usual da população, elas podem apresentar efeitos adversos (LÓPEZ-GIL *et al.*, 2017; HE *et al.*, 2019; LIN *et al.*, 2019). No entanto, a *E. japonica* demonstrou ter baixa toxicidade. O extrato etanólico da folha não induziu mutagenicidade ou clastogenicidade *in vitro* e *in vivo* (JEONG *et al.*, 2018), não teve toxicidade na dose de 1000 mg/kg/dia em machos e fêmeas em estudo subcrônico de 13 semanas (SEONG *et al.*, 2018). De acordo com OCDE (2008), e substâncias administradas por via oral que apresentarem DL 50 > 2.000 mg / kg são consideradas relativamente seguras. Além disso, o ácido triterpeno da folha de *Eriobotrya japonica* também obtiveram baixa toxicidade aguda e subaguda (LI *et al.*, 2017).

Assim, a *Eriobotrya japonica* é uma forte candidata para o tratamento coadjuvante da artrite, por suas evidências de atividades anti-inflamatórias; contudo, não há estudos experimentais demonstrando sua ação no tratamento da artrite (ZHANG, J. *et al.*, 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade anti-inflamatória e antiartrítica do extrato de folhas de *E. japonica*

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Verificar se o tratamento com o extrato de folhas de *E. japonica* possui ação anti-inflamatória em modelo de pleurisia induzida pela carragenina em camundongos;
- ✓ Verificar se o extrato de folhas de *E. japonica* possui ação antihiperalgésica e antiedematogênica em modelo de inflamação aguda, hiperalgisia e edema induzidos pela carragenina em camundongos;
- ✓ Verificar se o tratamento prolongado com o extrato de folha de *E. japonica* possui ação antihiperalgésica, antiartrítica e anti-inflamatória em modelo de hiperalgisia e inflamação persistente induzidas pelo adjuvante completo de Freund (CFA) em camundongos;
- ✓ Verificar se o tratamento com o extrato de folha de *E. japonica* possui ação anti-inflamatória articular em modelo de inflamação articular induzida por Zymosan em camundongos.
- ✓ Analisar a toxicidade aguda oral de *E. japonica*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOTEGARAY, M.; GUMILAR, F.; BOERIS, M.; TOSO, R.; MINETTI, A. Enhanced Analgesic Properties and Reduced Ulcerogenic Effect of a Mononuclear Copper(II) Complex with Fenoprofen in Comparison to the Parent Drug: Promising Insights in the Treatment of Chronic Inflammatory Diseases. **BioMed Research International**, v. 2014, 505987, 2014.

AI, R.; HAMMAKER, D.; BOYLE, D.L.; MORGAN, R.; WALSH, A.M., FAN, S.; FIRESTEIN, G.S.; WANG, W. Joint-specific DNA methylation and transcriptome signatures in rheumatoid arthritis identify distinct pathogenic processes. **Nature communications**, v. 7, p. 11849, 2016.

ALETAHA, D.; NEOGI, T.; SILMAN, A.J.; FUNOVITS, J.; FELSON, D.T.; BINGHAM, C.O.; BIRNBAUM, N.S.; BURMESTER, G.R.; BYKERK, V.P.; COHEN, M.D.; COMBE, B.; COSTENBADER, K.H.; DOUGADOS, M.; EMERY, P.; FERRACCIOLI, G.; HAZES, J.M.W.; HOBBS, K.; HUIZINGA, T. W. J.; KAVANAUGH, A.; KAY, J.; KVIEN, T. K.; LAING, T.; MEASE, P.; MÉNARD, H. A.; MORELAND, L. W.; NADEN, R. L.; PINCUS, T.; SMOLEN, J. S.; STANISLAWSKA-BIERNAT, E.; SYMMONS, D.; TAK, P. P.; UPCHURCH, K. S.; VENCOVSKY, J.; WOLFE, F.; HAWKER, G. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. **Arthritis & Rheumatism**, v. 62, n. 9, p. 2569 – 2581, 2010.

ALKHUDER, L.; MAWLAWI, H. Infantile Iatrogenic Cushing Syndrome due to Topical Steroids. **Case Reports in Pediatrics**, v. 2019: 2652961, 2019.

ANDERSON, D.L. Development of an instrument to measure pain in rheumatoid arthritis: Rheumatoid Arthritis Pain Scale (RAPS). **Arthritis Care & Research**, v. 45, p. 317 – 323, 2001.

ARNETT, F.C.; EDWORTHY, S.M.; BLOCH, D.A.; MCSHANE, D.J.; FRIES, J.F.; COOPER, N.S.; HEALEY, L.A.; KAPLAN, S.R.; LIANG, M.H.; LUTHRA, H.S.; MEDSGER, T.A.; MITCHELL, D.M.; NEUSTADT, D.H.; PINALS, R.S.; SCHALLER, J.G.; SHARP, J.T.; WILDER, R.L.; HUNTER, G.G. The American rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. **Arthritis & Rheumatology**, v. 31, n. 3, p. 315 - 324, 1988.

BANNO, N.; AKIHISA, T.; TOKURA, H.; YASUKAWA, K.; TAGUCHI, Y.; AKAZAWA, H.; UKIYA, M.; KIMURA, Y.; SUZUKI, T.; NISHINO, H. Anti-inflammatory and antitumor-promoting effects of the triterpene acids from the leaves of *Eriobotrya japonica*. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 28, n. 10, p. 1995 – 1999, 2005.

BARBOUR, K.E.; MOSS, S.; CROFT, J.B.; HELMICK, C.G.; THEIS, K.A.; BRADY, T.J.; MURPHY, L.B.; HOOTMAN, J.M.; GREENLUND, K.J.; LU, H.; WANG, Y. Geographic Variations in Arthritis Prevalence, Health-Related Characteristics, and Management - United States, 2015. **MMWR Surveill Summ**, 67, p. 1 - 28, 2018.

BEAR, M.F.; CONNORS, B.W.; PARADISO, M.A. **Neurociências**: desvendando o sistema nervoso. Porto Alegre (RS): Artmed, 2002.

BEST, C.H.; DALE, H.H.; DUDLEY, H.W.; THORPE, W.V. The nature of the vaso-dilator constituents of certain tissue extracts. **The Journal of Physiology**, v. 62, n. 4, p. 397 – 417, 1927.

BIJLSMA, J.W.; WEINBLATT, M.E. Optimal use of methotrexate: the advantages of tight control. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 66, n. 11, p. 1409 – 1418, 2007.

BOMBARDIER, C. An evidence-based evaluation of the gastrointestinal safety of coxibs. **American Journal of Cardiology**, v. 89, n. 6A, p. 3D - 9D, 2002.

BORAZAN, N.H.; FURST, D.E. Fármacos anti-inflamatórios não esteroides, fármacos antirreumáticos modificadores da doença, analgésicos não opióides e fármacos usados na gota. In: KATZUNG, B.G.; TREVOR, A.J. **Farmacologia básica e clínica**. 13 ed. Porto Alegre: AMGH, 2017. p. 618 - 641.

BRASIL: Ministério da Saúde. **Portaria conjunta nº 15, de 11 de dezembro de 2017**: Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Artrite Reumatoide, disponível em <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/dezembro/29/DIVULGACAO-DO-SITE-MINUTA-de-Portaria-Conjunta-PCDT-da-AR-15-12-2017.pdf> acesso: 14 de março de 2019. 11:01.

BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo Patologia**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 1472 p.

BRITSEMMER, K.; URSUM, J.; GERRITSEN, M.; VAN TUYL, L.H.; VAN SCHAARDENBURG, D. Validation of the 2010 ACR/EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis: slight improvement over the 1987 ACR criteria. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 70, n. 8, p. 1468 - 1470, 2011.

BURCKHARDT, C.S.; JONES, K.D. Adult measures of pain: the McGill pain questionnaire (MPQ), rheumatoid arthritis pain scale (RAPS), short-form McGill pain questionnaire (SF-MPQ), verbal descriptive scale (VDS), visual analog scale (VAS), and west haven-Yale multidisciplinary pain inventory (WHYMPI). **Arthritis Care & Research** (Hoboken), v.49, n. S5, p. S96–104, 2003.

BURGHARDT, R.D.; KAZIM, M.A.; RÜTHER, W.; NIEMEIER, A.; STRAHL, A. The impact of physical activity on serum levels of inflammatory markers in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. **Rheumatology International**, 21 de mar 2019.

CAMPBELL, J.N.; MEYER, R.A. Mechanisms of Neuropathic Pain. **Neuron**. v. 52, n. 1, p. 77 - 92, 2006.

CARLINO, E.; FRISALDI, E.; BENEDETTI, F. Pain and the context. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 10, n. 6, p. 348 - 55, 2014.

CHA, D.S.; EUN, J.S.; JEON, H. Anti-inflammatory and antinociceptive properties of the leaves of *Eriobotrya japonica*. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 134, p. 305 - 312, 2011.

CHANDRASHEKARA, S.; SHOBHA, V.; DHARMANAND, B.G.; JOIS, R.; KUMAR, S.; MAHENDRANATH, K.M.; HARIDAS, V.; PRASAD, S.; SINGH, Y.; DAWARE, M.A.; SWAMY, A.; SUBRAMANIAN, R.; SOMASHEKAR, S.A.; SHANTHAPPA, A.M.; ANUPAMA, K.R. Reduced incidence of extra-articular manifestations of RA through effective disease control: Karnataka Rheumatoid Arthritis Comorbidity (KRAC) study. **International Journal of Rheumatic Diseases**, n. 20; v. 11, p. 1694 - 1703, 2017.

CHIANG, J.T.; BADREALAM, K.F.; SHIBU, M.A.; CHENG, S.F.; SHEN, C.Y.; CHANG, C.F.; LIN, Y-M.; VISWANADHA, V.P.; LIAO, S-C. L.; HUANG, C.Y. Anti-Apoptosis and Anti-Fibrosis Effects of *Eriobotrya Japonica* in Spontaneously Hypertensive Rat Hearts. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 6, p. 1638, 2018.

CHINESE PHARMACOPOEIA COMMITTEE, **Chinese Pharmacopoeia**, v. 1, Chinese Medical Science and Technology Press: Beijing, China, 2010.

CHROUSOS, G.P. Adrenocorticosteroides e antagonistas adrenocorticais. *In*: KATZUNG, B.G.; TREVOR, A.J. **Farmacologia básica e clinica**. 13 ed. Porto Alegre: AMGH, 2017. p. 680 - 695.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins**: patologia estrutural e funcional. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 1251 p.

COVIC, T.; CUMMING, S.R.; PALLANT, J.F.; MANOLIOS, N.; EMERY, P.; CONAGHAN, P.G.; TENNANT, A. Depression and anxiety in patients with rheumatoid arthritis: prevalence rates based on a comparison of the depression, anxiety and stress scale (DASS) and the hospital, anxiety and depression scale (HADS). **BMC Psychiatry**, v. 12, p. 6, 2012.

CUNHA, T.M.; VERRI, W.A. JR.; VIVANCOS, G.G.; MOREIRA, I.F.; REIS, S.; PARADA, C.A.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H. An electronic pressure-meter nociception paw test for mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 3, p.401 - 407, 2004.

CUNNINGHAM, N. R.; KASHIKAR-ZUCK, S. Nonpharmacological treatment of pain in rheumatic diseases and other musculoskeletal pain conditions. **Current rheumatology reports**, v. 15, n. 2, p. 306, 2013.

DA MOTA, L.M.H.; CRUZ, B.A; BRENOL, C.V.; PEREIRA, I.A.; FRONZA, L.S.R.; BERTOLO, M.B.; FREITAS, M.V.C.; SILVA, N.A.; LOUZADA-JUNIOR, P.; GIORGI, R.D.N.; LIMA, R.A.C.; PINHEIRO, G.R.C. 2011 Consensus of the Brazilian Society of Rheumatology for diagnosis and early assessment of rheumatoid arthritis. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, n. 3, p. 199 - 219, 2011.

DOERR, W. Cohnheim's inflammation doctrine and the current debate. **Zentralblatt für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie**, v. 130, n. 4, p. 299 - 306, 1985.

DRAGOS, D.; GILCA, M.; GAMAN, L.; VLAD, A.; IOSIF, L.; STOIAN, I.; LUPESCU, O. Phytomedicine in Joint Disorders. **Nutrients**, v. 9, n. 1, p. 70, 2017.

DURSUN, F.; KIRMIZIBEKMEZ, H. Iatrogenic Cushing's syndrome caused by intranasal steroid use. **Northern clinics of Istanbul**, v. 4, n. 1, p. 97 – 99, 2016.

FERRERO-MILIANI, L.; NIELSEN, O.H.; ANDERSEN, P.S.; GIRARDIN, S.E. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 147, n. 2, p. 227 - 235, 2007.

FIRESTEIN, G.S.; MCINNES, I.B. Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. **Immunity**, v. 46, n. 2, p. 183 - 196, 2017.

FITZGERALD, G.A. COX-2 and beyond: approaches to prostaglandin inhibition in human disease. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, n. 11, p. 879 - 890, 2003.

FITZPATRICK, F. Cyclooxygenase Enzymes: Regulation and Function. **Current Pharmaceutical Design**, v. 10, n. 6, p. 577 - 588, 2004.

FOUGÈRE, B.; BOULANGER, E.; NOURHASHÉMI, F.; GUYONNET, S.; CESARI, M. Chronic Inflammation: Accelerator of Biological Aging. **Journals of Gerontology: Medical Sciences**. v. 00, n. 00, p. 1 - 8, 2016.

FU, X.; KONG, W.; PENG, G.; ZHOU J, AZAM M, XU C, GRIERSON D, CHEN. Plastid structure and carotenogenic gene expression in red- and white-fleshed loquat (*Eriobotrya japonica*) fruits. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 1, p. 341 - 354, 2012.

FULLERTON, J.N. ; GILROY, D.W. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. **Nature reviews**, v. 15, p. 551 - 567, 2016.

GERMOLEC, D.R.; SHIPKOWSKI, K.A.; FRAWLEY, R.P.; EVANS, E. Markers of Inflammation. **Methods in Molecular Biology**. n. 1803, p. 57 - 79, 2018.

GOLDING, D.N. **Reumatologia em medicina e reabilitação**. São Paulo: Atheneu, 2001.

GORDON, S. Elie Metchnikoff: father of natural immunity. **The European Journal of Immunology**, v. 38, n. 12, p. 3257 - 3264, 2008.

GROSSER, T.; SMYTH, E.; FITZGERALD, G.A. Agentes anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos: farmacoterapia da gota. In: BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, B.C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**, 12^a ed. Porto Alegre: AMGH, 2016. p. 959 - 1003.

HAMADA, A.; YOSHIOKA, S.; TAKUMA, D.; YOKOTA, J.; CUI, T.; KUSUNOSE, M.; MIYAMURA, M.; KYOTANI, S.; NISHIOKA, Y. The Effect of *Eriobotrya japonica* Seed Extract on Oxidative Stress in Adriamycin-Induced Nephropathy in Rats. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 12, p. 1961 - 1964, 2004.

HARRISON, C. Analgesia: a new player in neuropathic pain pathogenesis. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 12, n. 6, p. 422, 2013.

HE, S.; ZHANG, C.; ZHOU, P.; ZHANG, X.; YE, T.; WANG, R.; SUN, G.; SUN, X. Herb-Induced Liver Injury: Phylogenetic Relationship, Structure-Toxicity Relationship, and Herb-Ingredient Network Analysis. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 15, p. 25, 2019.

HUANG, Y.; LI, J.; WANG, R.; WU, Q.; LI, Y.H.; YU, S.C.; CHENG, W.M.; WANG, Y.Y. Effect of triterpene acids of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. leaf on inflammatory

cytokine and mediator induction from alveolar macrophages of chronic bronchitic rats. **Inflammation Research**, v. 56, n. 2, p. 76 – 82, 2007.

HUANG, Y.; LI, J.; WANG, R.; WU, Q.; LI, Y.H.; YU, S.C.; CHENG, W.M.; WANG, Y.Y. Effect of Triterpene Acids of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. Leaf and MAPK Signal Transduction Pathway on Inducible Nitric Oxide Synthase Expression in Alveolar Macrophage of Chronic Bronchitis Rats. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 37, n. 6, p. 1099 – 1111, 2009.

HUNTER, J. The classic: a treatise on the blood, inflammation, and gun-shot wounds. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 458, p. 27 – 34, 2007.

HURKMANS, E.; VAN DER GIESEN, F.J.; VLIET VLIELAND, T.P.; SCHOONES, J.; VAN DEN ENDE, E.C. Dynamic exercise programs (aerobic capacity and/or muscle strength training) in patients with rheumatoid arthritis. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 7, n. 4, CD006853, 2009.

IASP: Pain terms, **A Current List with Definitions and Notes on Usage" Classification of Chronic Pain**, 2 ed., IASP Task Force on Taxonomy, edited by H. Merskey and N. Bogduk, IASP Press, Seattle, 1994. p. 209-214.

INSTITUTE FOR QUALITY AND EFFICIENCY IN HEALTH CARE (IQWiG). **What is an inflammation?** InformedHealth.org [Internet]. Cologne, Germany, 2010 [Updated 2018]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279298/> acesso em 15 de maio de 2019, 14h28min.

ITO, H.; KOBAYASHI, E.; TAKAMATSU, Y.; LI, S.H.; HATANO, T.; SAKAGAMI, H.; KUSAMA, K.; SATOH, K.; SUGITA, D.; SHIMURA, S.; ITOH, Y.; YOSHIDA, T. Polyphenols from *Eriobotrya japonica* and their cytotoxicity against human oral tumor cell lines. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, p. 687 – 693, 2000.

JEONG, M.H.; SEONG, N.W.; LEE, J.Y.; KIM, Y.J.; SHIN, N.R.; KIM, J.C. In vitro and in vivo evaluation of the genotoxicity of *Eriobotrya japonica* leaf extract. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 99, p. 238 - 243, 2018.

JIAN, T.; AO, X.; WU, Y.; LV, H.; MA, L.; ZHAO, L.; TONG, B.; REN, B.; CHEN, J.; LI, W. Total sesquiterpene glycosides from Loquat (*Eriobotrya japonica*) leaf alleviate high-fat diet induced non-alcoholic fatty liver disease through cytochrome P450 2E1 inhibition. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 91, p. 229 - 237, 2017.

JIAN, T.; DING, X.; WU, Y.; REN, B.; LI, W.; LV, H.; CHEN, J. Hepatoprotective Effect of Loquat Leaf Flavonoids in PM2.5-Induced Non-Alcoholic Fatty Liver Disease via Regulation of IRS-1/Akt and CYP2E1/JNK Pathways. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 10, p. 3005, 2018.

JINAGAL, J.; GUPTA, P.C.; PILANIA, R.K.; RAM, J. Systemic toxicity of topical corticosteroids. **Indian journal of ophthalmology**, v. 67, n. 4, p. 559 – 561, 2019.

JULIUS, D.; BASBAUMN, A.I.; Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, p. 203 - 210, 2001.

JUNG, H.A.; PARK, J.C.; CHUNG, H.Y.; KIM, J.; CHOI, J.S. Antioxidant Flavonoids and Chlorogenic Acid from the Leaves of *Eriobotrya japonica*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 22, n. 2, p. 213 – 218, 1999.

JUNG, S.J.; LEE, S-W.; HA, Y.J.; LEE, K-H.; KANG, Y.; PARK, M-C.; LEE, S-K; PARK, Y-B. Patients with early arthritis who fulfil the 1987 ACR classification criteria for rheumatoid arthritis but not the 2010 ACR/EULAR criteria. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 71, n. 6, p. 1097 - 1098, 2011.

KÄLLBERG, H.; DING, B.; PADYUKOV, L.; BENGTSSON, C.; RÖNNELID, J.; KLARESKOG, L.; ALFREDSSON, L.; EIRA STUDY GROUP. Smoking is a major preventable risk factor for rheumatoid arthritis: estimations of risks after various exposures to cigarette smoke. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 70, n. 3, p. 508 - 511, 2010.

KAMINSKY, Z.A.; TANG, T.; WANG, S.C.; PTAK, C.; OH, G.H.; WONG, A.H.; FELDCAMP, L.A.; VIRTANEN, C.; HALFVARSON, J.; TYSK, C.; MCRAE, A.F.; VISSCHER, P.M.; MONTGOMERY, G.W.; GOTTESMAN, I.I.; MARTIN, N.G.; PETRONIS, A. DNA methylation profiles in monozygotic and dizygotic twins. **Nature Genetics**, v. 41, n. 2, p. 240 - 245, 2009.

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSELL, T.M. **Princípios da neurociências**. 4 ed. Barueri (SP): Manole, 2003.

KASSUYA, C.A.L. **Aspectos gerais da inflamação e da dor**. Dourados: UFGD, 2013. 102 p.

KEEFE, K.D. The pain chart. **Lancet**, v. 2, p. 6 - 8, 1948.

KERNS, R.D.; TURK, D.C.; RUDY, T.E. The West Haven-Yale Multidimensional Pain Inventory (WHYMPI). **Pain**, v. 13, p. 345 - 356, 1985.

KHILFEH, I.; GUYETTE, E.; WATKINS, J.; DANIELSON, D.; GROSS, D.; YEUNG, K. Adherence, Persistence, and Expenditures for High-Cost Anti-Inflammatory Drugs in Rheumatoid Arthritis: An Exploratory Study. **Journal of managed care and specialty pharmacy**. v. 25, n. 4, p. 461 - 467, 2019.

KIM, M.S.; YOU, M.K.; RHYU, D.Y.; JEONG, K.S.; KIM, Y.J.; BAEK, H.Y.; KIM, H-A. Oral administration of loquat suppresses DMBA-induced breast cancer in rats. **Food Science and Biotechnology**, v. 20, n. 2, p. 491 – 497, 2011.

KIM, O.K.; NAM, D.E.; JUN, W.; LEE, J. Effects of Standardized *Eriobotrya japonica* Extract in LP-BM5 Murine Leukemia Viruses-Induced Murine Immunodeficiency Syndrome. **Immunological investigations**, v. 45, n. 2, p. 148 - 160, 2016.

KIM, S.H.; SHIN, T.Y. Anti-inflammatory effect of leaves of *Eriobotrya japonica* correlating with attenuation of p38 MAPK, ERK, and NF- κ B activation in mast cells. **Toxicology in Vitro**, v. 23, n. 7, p. 1215 – 1219, 2009.

KRAAN, P.M.V.D. The Interaction between Joint Inflammation and Cartilage Repair. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 16, n. 4, p. 327 - 334, 2019.

KUMAR, V.; ABBAS, A.; ASTER, J. **Robbins & Cotran, patologia: bases patológicas das doenças**, 9 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 1420 p.

KUNER, R. Central mechanisms of pathological pain. **Nature Medicine**, v. 16, n. 11, p. 1258 - 1266, 2010.

KUPRASH, D.V.; NEDOSPASOV, S.A. Molecular and Cellular Mechanisms of Inflammation. **Biochemistry (Mosc)**, v. 81, n. 11, p. 1237 - 1239, 2016.

LAVETI, D.; KUMAR, M.; HEMALATHA, R.; SISTLA, R.; NAIDU, V. G.; TALLA, V.; VERMA, V.; KAUR, N.; AND NAGPAL, R. Anti-inflammatory treatments for chronic diseases: a review, **Inflammation & Allergy - Drug Targets**, v. 12, p. 349 - 361, 2013.

LEE, M.H.; SON, Y.K.; HAN, Y.N. Tissue factor inhibitory sesquiterpene glycoside from *Eriobotrya japonica*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 27, n. 6, p. 619 – 623, 2004.

LÉRIAS, j.r. Colecoxibe e rofecoxibe: eficácia e segurança dos inibidores selectivos da COX-2 comparativamente aos AINSEs não seletivos. **Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar**, n. 20, p. 47 - 64, 2004.

LI, F.; LI, Y.; LI, Q.; SHI, X.; GUO, Y. Acute and Subacute Oral Toxicity Evaluation of *Eriobotrya japonica* Leaf Triterpene Acids in ICR Mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, 2017.

LI, Y.C.; CHOU, Y.C.; CHEN, H.C.; LU, C.C.; CHANG, D.M. Interleukin-6 and interleukin-17 are related to depression in patients with rheumatoid arthritis. **International Journal of Rheumatic Diseases**, v. 22, n. 6, p. 980 - 985, 2019.

LIEBERMAN, P. The basics of histamine biology. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 106, n. 2, S2 – S5, 2011.

LIN, C.C.; LIN, C.S. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. **Food Control**, v. 16, n. 2, p. 169 – 175, 2005.

LIN, N.H.; YANG, H.W.; SU, Y.J.; CHANG, C.W. Herb induced liver injury after using herbal medicine: A systemic review and case-control study. **Medicine (Baltimore)**, v. 98, e14992, 2019.

LIU, Y.; ZHANG, W.; XU, C.; LI, X. Biological Activities of Extracts from Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.): A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 12, p. 1983, 2016.

LIU-BRYAN, R.; TERKELTAUB, R. Emerging regulators of the inflammatory process in osteoarthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 11, n. 1, p. 35 - 44, 2015.

LÓPEZ-GIL, S.; NUÑO-LÁMBARRI, N.; CHÁVEZ-TAPIA, N.; URIBE, M.; BARBERO-BECERRA, V.J. Liver toxicity mechanisms of herbs commonly used in Latin America. **Drug metabolism reviews**, v. 49, p. 338 - 356, 2017.

LOTTRICH, F.E. Inflammatory cytokine-associated depression. **Brain research**, v. 1617, p. 113 – 125, 2014.

LOUATI, K.; BERENBAUM, F. Fatigue in chronic inflammation - a link to pain pathways. **Arthritis Research & Therapy**, n. 5, v. 17, p. 254, 2015.

LUCAS, G.N.C.; LEITÃO, A.C.C.; ALENCAR, R.L.; XAVIER, R.M.F.; DAHER, E.F.; SILVA JUNIOR, G.B. Aspectos fisiopatológicos da nefropatia por anti-inflamatórios não esteroidais. **The Brazilian Journal of Nephrology**, v. 41, n. 1, p. 124 - 130, 2019.

MAEMA, L.P.; POTGIETER, M.; MAHLO, S.M. Invasive alien plant species used for the treatment of various diseases in limpopo province, south Africa. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**. v. 13, n. 4, p. 223 – 231, 2016.

MAHER, K.; YASSINE, B.A.; SOFIANE, B. Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Eriobotrya japonica* leaves extracts. **African health sciences**. v. 15, n. 2, p. 613 - 620, 2015.

MAJNO, G. **The healing hand: man and wound in the ancient world**. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1975.

MARGARETTEN, M.; JULIAN, L.; KATZ, P.; YELIN, E. Depression in patients with rheumatoid arthritis: description, causes and mechanisms. **International Journal of Clinical Rheumatology**, v. 6, n. 6, p. 617 - 623, 2011.

MARNETT, L.J.; ROWLINSON, S.W.; GOODWIN, D.C.; KALGUTKAR, A.S.; LANZO, C.A. Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2. Mechanisms of catalysis and inhibition. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 274, p. 22903 - 22906, 1999.

MARQUES-NETO, J.; GONÇALVES, E.; LANGEN, L.; CUNHA, M.; RADOMINSKI, S.; OLIVEIRA, S. Multicentric study of the prevalence of adult rheumatoid arthritis in Brazilian population samples. **Revista Brasileira de Reumatologia**. v. 33, 169 - 173, 1993.

MATALKA, K.Z.; ALI, D.; KHAWAD, A.E.; QA'DAN, F. The differential effect of *Eriobotrya japonica* hydrophilic leaf extract on cytokines production and modulation. **Cytokine**, v. 40, p. 235 – 240, 2007.

MATCHAM, F.; RAYNER, L.; STEER, S.; HOTOPIF, M. The prevalence of depression in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. **Rheumatology (Oxford)**, v. 52, n. 12, p. 2136 - 2148, 2013.

MCGARRY, T.; BINIECKA, M.; VEALE, D.J.; FEARON, U. Hypoxia, oxidative stress and inflammation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 125, p. 15 - 24, 2018.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame, **Cell**, v. 140, p. 771 - 776, 2010.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, n. 7203: 428 - 435, 2008.

MELZACK, R. The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring methods. **Pain**, v. 1, p. 277 – 299, 1975.

MELZACK, R. The short-form McGill Pain Questionnaire. **Pain**, v. 30, p. 191 – 197, 1987.

MENKIN, V.; WARNER, C. R. Studies on Inflammation: XIII. Carbohydrate Metabolism, Local Acidosis, and the Cytological Picture in Inflammation. **The American journal of pathology**, v. 13, n. 1, p. 25 – 44, 1937.

MESSLINGER, K.; HANDWERKER, H.O. Physiology of pain. **Schmerz**, v. 29, n.5, p. 522 - 530, 2015.

MITCHELL, R.N.; KUMAR, V.; ABBAS, A.; FAUSTO, N.; ASTER, J. **Robbins & Cotran: Fundamentos de patologia**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 699 p.

MONEY, S. The Risks of Chronic Corticosteroid Exposure. **Journal of Pain & Palliative Care Pharmacotherapy**, v. 31, n. 2, p. 160 – 161, 2017.

MOTA, L.M.H.; KAKEHASI, A.M.; GOMIDES, A.P.M.; DUARTE, A.L.B.P.; CRUZ, B.A.; BRENOL, C.V.; ALBUQUERQUE, C.P.; PINHEIRO, G.R.; LAURINDO, I.M.M.; PEREIRA, I.A.; BARTOLO, M.B.; SOUZA, M.P.G.U.S.; FREITAS, M.V.C.; LOUZADA-JUNIOR, P.; XAVIER, R.M.; GIORGIO, D.N. 2017 Recommendations of Brazilian Society of Rheumatology for the pharmacological treatment of rheumatoid arthritis. **Advances in Rheumatology**, v. 58, n. 2, p. 1 - 17, 2018.

MURAMOTO, K.; QUAN, R.D; NAMBA, T.; KYOTANI, S.; MIYAMURA, M.; NISHIOKA, Y.; TONOSAKI, K.; DOI, Y.L.; KABA, H.. Ameliorative effects of Eriobotrya japonica seed extract on cellular aging in cultured rat fibroblasts. **Journal of Natural Medicines**, v. 65, n. 2, p. 254 – 261, 2011.

NATCEN SOCIAL RESEARCH. Adult Psychiatric Morbidity Survey: Survey of Mental Health and Wellbeing, England, **The National Archives**, 2014 [Internet]. Disponível em: <http://content.digital.nhs.uk/catalogue/PUB21748> acesso em 25 de março de 2019.

NATHAN, C.; DING, A. Nonresolving Inflammation. **Cell**, v. 140, n. 5, p. 871 - 882, 2010.

NEOGI, T.; ALETAHA, D.; SILMAN, A. J.; NADEN, R. L.; FELSON, D. T.; AGGARWAL, R.; BINGHAM, C. O.; BIRNBAUM, N. S.; BURMESTER, G. R.; BYKERK, V. P.; COHEN, M. D.; COMBE, B.; COSTENBADER, K. H.; DOUGADOS, M.; EMERY, P.; FERRACCIOLI, G.; HAZES, J. M.; HOBBS, K.; HUIZINGA, T. W.; KAVANAUGH, A.; KAY, J.; KHANNA, D.; KVIEN, T. K.; LAING, T.; LIAO, K.; MEASE, P.; MÉNARD, H. A.; MORELAND, L. W.; NAIR, R.; PINCUS, T.; RINGOLD, S.; SMOLEN, J. S.; STANISLAWSKA-BIERNAT, E.; SYMMONS, D.; TAK, P. P.; UPCHURCH, K. S.; VENCOVSKÝ, J.; WOLFE, F.; HAWKER, G. The 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for rheumatoid arthritis: Phase 2 methodological report. **Arthritis and rheumatism**, n. 62, v. 9, p. 2582 - 2591, 2010.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 3, p. 311 - 335, 2012.

NIKOLAUS, S.; BODE, C.; TAAL, E.; VAN DE LAAR, M.A. Fatigue and factors related to fatigue in rheumatoid arthritis: a systematic review. **Arthritis Care & Research** (Hoboken), n. 65, v. 7, p. 1128 - 1146, 2013.

PARK, K.A.; VASKO, M.R. Lipid mediators of sensitivity in sensory neurons. **Trends In Pharmacological Sciences**, v. 26, n. 11, p. 571 - 577, 2005.

PINCUS, T.; YAZICI, Y.; SOKKA, T.; ALETAHA, D.; SMOLEN, J.S. Methotrexate as the “anchor drug” for the treatment of early rheumatoid arthritis. **Clinical and experimental rheumatology**, v. 21, Suppl 31, S179 – 85.19, 2003.

PRASAD, S.; SUNG, B.; AGGARWAL, B.B. Age-associated chronic diseases require age-old medicine: role of chronic inflammation. **Preventive Medicine**, v. 54 (Suppl), S29 - S37, 2012.

RADNER, H.; NEOGI, T.; SMOLEN, J.S.; ALETAHA, D. Performance of the 2010 ACR/EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis: a systematic literature review. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 73, p. 114 – 123, 2014.

RAMBOD, M.; NAZARINIA, M.; RAIESKARIMIAN, F. The prevalence and predictors of herbal medicines usage among adult rheumatoid arthritis patients: A case-control study, **Complementary Therapies in Medicine**, v. 41, p. 220 - 224, 2018.

RAUCH, I.; MÜLLER, M.; DECKER, T. The regulation of inflammation by interferon and their STATs. **Jak-Stat**, v. 2, n. 1, p. e23820, 2013.

RICE, J.B.; WHITE, A.G.; SCARPATI, L.M.; WAN, G.; NELSON, W.W. Long-term Systemic Corticosteroid Exposure: A Systematic Literature Review. **Clinical Therapeutics**, v. 39, n. 11, p. 2216 - 2229, 2017.

SARZI-PUTTINI, P.; ATZENI, F.; LUBRANO, E. Complementary medicine in rheumatoid arthritis. **Reumatismo**, v. 57, n. 4, p. 226 - 231, 2005.

SCHER, J.U.; SCZESNAK, A.; LONGMAN, R.S.; SEGATA, N.; UBEDA, C.; BIELSKI, C.; ROSTRON, T.; CERUNDOLO, V.; PAMER, E.G.; ABRAMSON, S.B.; HUTTENHOWER, C.; LITTMAN, D.R. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. **eLife**, v. 2, e01202, 2013.

SCHIEPERS O, WICHERS M, MAES M. Cytokines and major depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 29, n. 2, p. 201 - 217, 2005.

SCHUR, P.; CURRIER, B. Cervical subluxation in rheumatoid arthritis. **Up to date**, 2012

SCHUR, P.; MATTERSON, E.L.; TURESSON, C. Overview of the systemic and non articular manifestations of rheumatoid arthritis. **Up to date**, 2012

SCOTT, I.C.; MACHIN, A.; MALLEN, C.D.; HIDER, S.L. The extra-articular impacts of rheumatoid arthritis: moving towards holistic care. **BMC rheumatology**, v. 2, n. 32, 2018.

SEIBERT, K.; ZHANG, Y.; LEAHY, K.; HAUSER, S.; MASFERRER, J.; ISAKSON, P.; Distribution of COX-1 and COX-2 in normal and inflamed tissues. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, 400A, p. 167 - 170, 1997.

SENNA, E.R.; DE BARROS, A.L.; SILVA, E.O.; COSTA, I.F.; PEREIRA, L.V.; CICONELLI, R.M.; FERAZ, M.B. Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. **The Journal of Rheumatology**, v. 31, n. 3. p. 594 - 597, 2004.

SEONG, N.W.; SEO, H.S.; KIM, J.H.; KIM, Y.J.; KIM, E.; LEE, J.Y.; KO, J.W.; KIM, J.C. A 13-week subchronic toxicity study of an *Eriobotrya japonica* leaf extract in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 15, n. 226, p. 1 - 10, 2018.

SETTY, A.R.; SIGAL L.H. Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: mechanisms of action, efficacy, and side effects. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 34, p. 773 – 784, 2005.

SHACTER, E.; WEITZMAN, S.A. Chronic inflammation and cancer. **Oncology** (Williston Park), v. 16, n. 2, p. 217 - 226, 229, 2002.

SHAHAT, A. A.; ULLAH, R.; ALQAHTANI, A. S.; ALSAID, M. S.; HUSSEINY, H. A.; MEANAZEL, O. Hepatoprotective effect of *Eriobotrya japonica* leaf extract and its various fractions against carbon tetra chloride induced hepatotoxicity in rats. **Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM**, 2018, 3782768, 2018.

SHIH, C.C.; LIN, C.H.; WU, J.B. *Eriobotrya japonica* improves hyperlipidemia and reverses insulin resistance in high-fat-fed mice. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. 12, p. 1769 – 1780, 2010.

SIMMONDS, M.; PREEDY, V.R. **Nutritional Composition of Fruit Cultivars**. London: Academic Press, 2016. 796 p.

SMOLEN, J.S.; ALETAHA, D.; BARTON, A.; BURMESTER, G.R.; EMERY, P.; FIRESTEIN, G.S.; KAVANAUGH, A.; MCINNES, I.B.; SOLOMON, D.H.; STRAND, V.; YAMAMOTO, K. Rheumatoid arthritis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 9, p. 1 - 23, 2018.

SMOLEN, J.S.; BREEDVELD, F.C.; BURMESTER, G.R.; BYKERK, V.; DOUGADOS, M.; EMERY, P.; KVIEN, T. K.; NAVARRO-COMPÁN, M.V.; OLIVER, S.; SCHOELS, M.; SCHOLTE-VOSHAAR, M.; STAMM, T.; STOFFER, M.; TAKEUCHI, T.; ALETAHA, D.; ANDREU, J.L.; ARINGER, M.; BERGMAN, M.; BETTERIDGE, N.; BIJLSMA, H.; BURKHARDT, H.; CARDIEL, M.; COMBE, B.; DUREZ, P.; FONSECA, J.E.; GIBOFSKY, A.; GOMEZ-REINO, J.J.; GRANINGER, W.; HANNONEN, P.; HARAOU, B.; KOULOUMAS, M.; LANDEWE, R.; MARTIN-MOLA, E.; NASH, P.; OSTERGAARD, M.; ÖSTÖR, A.; RICHARDS, P.; SOKKA-ISLER, T.; THORNE, C.; TZIOUFAS, A. G.; VAN VOLLENHOVEN, R.; DE WIT, M.; VAN DER HEIJDE, D. Treating rheumatoid arthritis to target: 2014 update of the recommendations of an international task force. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 75, n. 1, p. 3 - 15, 2015.

SMOLEN, J.S.; LANDEWÉ, R.; BREEDVELD, F.C.; BUCH, M.; BURMESTER, G.; DOUGADOS, M.; EMERY, P.; GAUJOUX-VIALA, C.; GOSSEC, L.; NAM, J.; RAMIRO, S.; WINTHROP, K.; DE WIT, M.; ALETAHA, D.; BETTERIDGE, N.; BIJLSMA, J. W.; BOERS, M.; BUTTGEREIT, F.; COMBE, B.; CUTOLO, M.; DAMJANOV, N.; HAZES, J. M.; KOULOUMAS, M.; KVIEN, T. K.; MARIETTE, X.; PAVELKA, K.; VAN RIEL, P. L.; RUBBERT-ROTH, A.; SCHOLTE-VOSHAAR, M.; SCOTT, D. L.; SOKKA-ISLER, T.; WONG, J. B.; VAN DER HEIJDE, D. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 73, n. 3, p. 492 - 509, 2013.

SOUZA, W.M. de; SANTOS, C.A. de M.; DUARTE, M. do R.; BARDAL, D. Morfo-anatomia das folhas da nespereira – *Eriobotrya japonica* Lindl., Rosaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 1, p. 41 - 49, 2003.

SUN, G.; LIU, Y.; ZHU, J.; IGUCHI, M.; YOSHIOKA, S.; MIYAMURA, M.; KYOTANI, S.L. Immunomodulatory Effect of *Eriobotrya japonica* Seed Extract on Allergic Dermatitis Rats. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 56, n. 2, p. 145 – 149, 2010.

TAI, Q.; XU, X.; GUO, W. Analysis of chemical composition of essential oil in leaves of *Eriobotrya japonica* by GC-MS. **Chinese Journal of Hospital Pharmacy**, v. 3, 2008.

TAKUMA, D.; GUANGCHEN, S.; YOKOTA, J.; HAMADA, A.; ONOGAWA, M.; YOSHIOKA, S.; KUSUNOSE, M.; MIYAMURA, M.; KYOTANI, S.; NISHIOKA, Y. Effect of *Eriobotrya japonica* Seed Extract on 5-Fluorouracil-Induced Mucositis in Hamsters. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 2, p. 250 – 254, 2008.

TAN, E.M.; SMOLEN, J.S. Historical observations contributing insights on etiopathogenesis of rheumatoid arthritis and role of rheumatoid factor. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 213, n. 10, p. 1937 - 1950, 2016.

TAN, H.; ASHOUR, A.; KATAKURA, Y.; SHISHIMIZU, K. A structure–activity relationship study on antiosteoclastogenesis effect of triterpenoids from the leaves of loquat (*Eriobotrya japonica*). **Phytomedicine**, v. 22, n. 4, p. 498 - 503, 2015.

TAN, H.; SONAM, T.; SHIMIZU, K. The Potential of Triterpenoids from Loquat Leaves (*Eriobotrya japonica*) for Prevention and Treatment of Skin Disorder. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 5, p. 1030, 2017.

TAN, H.; ZHAO, C.; ZHU, Q.; KATAKURA, Y.; TANAKA, H.; OHNUKI, K.; SHIMIZU, K. Ursolic Acid Isolated from the Leaves of Loquat (*Eriobotrya japonica*) Inhibited Osteoclast Differentiation through Targeting Exportin 5. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 12, p. 3333 - 3340, 2019.

TANAKA, K.; TAMARU, S.; NISHIZONO, S.; MIYATA, Y.; TAMAYA, K.; MATSUI, T.; TANAKA, T.; ECHIZEN, Y.; IKEDA, I. Hypotriacylglycerolemic and antiobesity properties of a new fermented tea product obtained by tea-rolling processing of third-crop green tea (*Camellia sinensis*) leaves and loquat (*Eriobotrya japonica*) leaves. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 74, p. 1606 – 1612, 2010.

TAUBER, A. I. Metchnikoff and the phagocytosis theory. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 4, n. 11, p. 897 – 901, 2003.

THAKUR, M.; DICKENSON, A.H.; BARON, R. Osteoarthritis pain: nociceptive or neuropathic? **Nature Reviews Rheumatology**, v. 10, n. 6, p. 374 - 380, 2014.

USNAYO, M.J.; ANDRADE, L.E.; ALARCON, R.T.; OLIVEIRA, J.C. SILVA, G.M. BENET, I.; BURLINGAME, R.; PORTO, L.C.; PINHEIRO, G.R.C. Study of the frequency of HLA-DRB1 alleles in Brazilian patients with rheumatoid arthritis. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, n. 5, p. 465 - 483, 2011.

ÜSTYOL, A.; KÖKALI, F.; DURU, N.; DUMAN, M.A.; ELEVLI, M. Cushing's syndrome caused by use of synthetic ocular steroid. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 42, n. 6, p. 780 - 782, 2017.

UWAIFO, G.I.; HURA, D.E. Hypercortisolism. In: **StatPearls** [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.

VAN DER HEIDE, A.; JACOBS, J.W.; BIJLSMA, J.W.; HEURKENS, A.H.; VAN BOOMA-FRANKFORT, C.; VAN DER VEEN, M.J.; HAANEN, H.C.; HOFMAN, D.M.; VAN ALBADA-KUIPERS, G.A.; TER BORG, E.J.; BRUS, H.L.; DINANT, H.J.; KRUIZE, A.A.; SCHENK, Y. The effectiveness of early treatment with "second-line" antirheumatic drugs. A randomized, controlled trial. **Annals of Internal Medicine**, v. 124, n. 8, p. 699 - 707, 1996.

VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature: New biology**, v. 231, p. 232 - 235, 1971.

VARELA, M.L.; MOGILDEA, M.; MORENO, I.; LOPES, A. Acute Inflammation and **Metabolism. Inflammation**, v. 41, n. 4, p. 1115 – 1127, 2018.

VENABLES, P.; MAINI, R. Clinical features of rheumatoid arthritis. **UpToDate**, 2012

WATKINS, L.R.; MAIER, S.F. Beyond neurons: evidence that immune and glial cells contribute to pathological pain states. **Physiological Reviews**, v. 82, n. 4, p. 981 - 1011, 2002.

WEGNER, N.; WAIT, R.; SROKA, A.; EICK, S.; NGUYEN, K.A.; LUNDBERG, K.; KINLOCH, A.; CULSHAW, S.; POTEPA, J.; VENABLES, P.J. Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and α -enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. **Arthritis & Rheumatology**, v. 62, n. 9, p. 2662 - 2672, 2010.

WEYAND, C.M.; HICOK, K.C.; CONN, D.L.; GORONZY, J.J. The influence of HLA-DRB1 genes on disease severity in rheumatoid arthritis. **Annals of Internal Medicine**, v. 117, p. 801, 1992.

WHO: World Health Organization. Programme on Traditional Medicine. **Regulatory situation of herbal medicines : a worldwide review**. Geneva : World Health Organization, 49 p., 1998. <http://www.who.int/iris/handle/10665/63801>

WINYARD, P.G.; WILLOUGHBY, D.A. Inflammation protocols. **Methods InMolecular Biology**. v. 225. Totowa (NJ): Humana Press, 2003.

WOOLF, C.J.; MANNION, R.J. Neuropathic pain: a etiology, symptoms, mechanisms, and management. **Lancet**, v. 353, n. 9168, p. 1959 - 1964, 1999.

WOOLF, C.J.; SALTER, M.W. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. **Science**, v. 288, n. 5472, p. 1765 - 1769, 2000.

XU, S.; WANG, G.; PENG, W.; XU, Y.; ZHANG, Y.; GE, Y.; JING, Y.; GONG, Z. Corosolic acid isolated from *Eriobotrya japonica* leaves reduces glucose level in human hepatocellular carcinoma cells, zebrafish and rats. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, 4388, 2019.

YANG, Y.; HUANG, Y.; HUANG, C.; LV, X.W.; LIU, L.; WANG, Y.Y.; LI, J. Antifibrosis Effects of Triterpene acids of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. leaf in a rat model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, n. 12, p. 1751 – 1760, 2012.

YOSHIOKA, S.; HAMADA, A.; JOBU, K.; YOKOTA, J.; ONOGAWA, M.; KYOTANI, S.; MIYAMURA, M.; SAIBARA, T.; ONISHI, S.; NISHIOKA, Y. Effects of *Eriobotrya japonica* seed extract on oxidative stress in rats with non-alcoholic steatohepatitis. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, n. 2, p. 241 – 246, 2010.

YOU, M.K.; KIM, M.S.; JEONG, K.S.; KIM, E.; KIM, Y.J.; KIM, H.A. Loquat (*Eriobotrya japonica*) leaf extract inhibits the growth of MDA-MB-231 tumors in nude mouse xenografts and invasion of MDA-MB-231 cells. **Nutrition Research and Practice**, v. 10, n. 2, p. 139 - 147, 2016.

ZAR, P.P.K.; MORISHITA, A.; HASHIMOTO, F.; SAKAO, K.; FUJII, M.; WADA, K.; HOU, D.-X. Anti-inflammatory effects and molecular mechanisms of loquat (*Eriobotrya japonica*) tea. **Journal of Functional Foods**, v. 6, p.523 – 533, 2014.

ZHANG, J.; LI, Y.; CHEN, S-S.; ZHANG, L.; WANG, J.; YANG, W.; ZHANG, S.; PAN, Y.; WANG, Y.; YANG, L. Systems Pharmacology Dissection of the Anti-Inflammatory Mechanism for the Medicinal Herb *Folium Eriobotryae*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 2, p. 2913 - 2941, 2015.

ZHANG, J.; XU, H.Y.; WU, Y.J.; ZHANG, X.; ZHANG, L.Q.; LI, Y.M. Neutrophil elastase inhibitory effects of pentacyclic triterpenoids from *Eriobotrya japonica* (loquat leaves). **Journal of Ethnopharmacology**. pii: S0378-8741, n. 18, p. 34104 - 34107, 2019.

ZHANG, W.; ZHAO, X.; SUN, C.; LI, X.; CHEN, K. Phenolic Composition from Different Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) Cultivars Grown in China and Their Antioxidant Properties. **Molecules**, v. 20, n. 1, p. 542 – 555, 2015.

ZHANG, X.; ZHANG, D.; JIA, H.; FENG, Q.; WANG, D.; LIANG, D.; WU, X.; LI, J.; TANG, L.; LI, Y.; LAN, Z.; CHEN, B.; LI, Y.; ZHONG, H.; XIE, H.; JIE, Z.; CHEN, W.; TANG, S.; XU, X.; WANG, X.; CAI, X.; LIU, S.; XIA, Y.; LI, J.; QIAO, X.; AL-AAMA, J.Y.; CHEN, H.; WANG, L.; WU, Q.J.; ZHANG, F.; ZHENG, W.; LI, Y.; ZHANG, M.; LUO, G.; XUE, W.; XIAO, L.; LI, J.; CHEN, W.; XU, X.; YIN, Y.; YANG, H.; WANG, J.; KRISTIANSEN, K.; LIU, L.; LI, T.; HUANG, Q.; LI, Y.; WANG, J. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. **Nature Medicine**, v. 21, n. 8, p. 895 - 905, 2015.

ZHANG, Z.; CAI, Y.Q.; ZOU, F.; BIE, B.; PAN, Z.Z. Epigenetic suppression of GAD65 expression mediates persistent pain. **Nature Medicine**, v. 17, n. 11, p. 1448 - 1455, 2011.

ZHOU, C.; CHEN, K.; SUN, C.; CHEN, Q.; ZHANG, W.; LI, X. Determination of oleanolic acid, ursolic acid and amygdalin in the flower of *Eriobotrya japonica* Lindl. by HPLC. **Biomedical Chromatography**, v. 21, n. 7, p. 755 – 761, 2007.

ZHOU, C.; SUN, C.; CHEN, K.; LI, X. Flavonoids, Phenolics, and Antioxidant Capacity in the Flower of *Eriobotrya japonica* Lindl. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 12, p. 2935 – 2945, 2011.

ZHOU, J.X.; WINK, M. Reversal of Multidrug Resistance in Human Colon Cancer and Human Leukemia Cells by Three Plant Extracts and Their Major Secondary Metabolites. **Medicines** (Basel, Switzerland), v. 5, n. 4, 123, 2018.

ZOU, J-X.; WINK, M. Evidence for Anti-Inflammatory Activity of Isoliquiritigenin, 18 β Glycyrrhetic Acid, Ursolic Acid, and the Traditional Chinese Medicine Plants *Glycyrrhiza glabra* and *Eriobotrya japonica*, at the Molecular Level. **Medicines**, v. 6, p. 55, 2019.



Anti-inflammatory and anti-arthritic activity in extract from the leaves of *Eriobotrya japonica*



Ângela Midori Kuraoka-Oliveira^{a,b,*}, Joyce Alencar Santos Radai^a, Maicon Matos Leitão^{a,b},
Claudia Andrea Lima Cardoso^c, Saulo Euclides Silva-Filho^d, Cândida Aparecida Leite Kassuya^{a,e}

^a School of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS, Brazil

^b School of Health Sciences, University Center of Grande Dourados (UNIGRAN), Dourados, MS, Brazil

^c Center of Studies on Natural Resource, Mato Grosso do Sul State University (UEMS) - Dourados, Dourados, MS, Brazil

^d School of Pharmaceutical Sciences, Food and Nutrition, Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brazil

^e University Hospital (HU-UFGD), Federal University of Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

E. japonica
Inflammation
Antihyperalgesic
Articular
Joint
Loquat

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: The *Eriobotrya japonica* (EJ) is a Chinese medicinal plant that is currently grown in Brazil. *E. japonica* leaves infusion is traditionally used in the treatment of inflammation; however, there are few scientific studies showing the effects of these properties on joint articular and persistent experimental inflammation.

Aim of the study: The present research had objective investigation of the effect of infusion obtained from leaves of *E. japonica* (EJLE) on acute and persistent experimental articular inflammation.

Materials and methods: The Swiss mice were treated orally with EJLE and analyzed for acute pleural inflammation (30, 100, and 300 mg/kg), paw edema induced by carrageenan (100 mg/kg), acute knee inflammation induced by zymosan (100 mg/kg), and persistent inflammation induced by Complete Freund's Adjuvant (CFA) (30 and 100 mg/kg). Mechanical hyperalgesia, cold and edema were analyzed.

Results: The chromatographic analysis of EJLE revealed the presence of corosolic acid, oleanolic acid, and ursolic acid. EJLE presented anti-inflammatory activity in the pleurisy model, inhibiting leukocyte migration, protein extravasation and nitric oxide production. In the articular inflammation model, EJLE reduced the number of leukocytes in the joint cavity, paw edema and hyperalgesia (4 h after induction). In the persistent inflammation model induced by CFA, the extract reduced paw edema after 11 days of mechanical and cold hyperalgesia on day 6.

Conclusions: The EJLE has anti-inflammatory and antihyperalgesic potential in models of acute and persistent experimental articular inflammation, making this infusion a new possibility for complementary treating acute or chronic articular inflammatory diseases.

1. Introduction

The joint inflammatory processes associated with arthritis are multifactorial conditions that affect an average of 23% of adults in the United States (Barbour et al., 2018), with a strong impact on the quality of life of individuals and the high cost of treatment. For example, the prevalence of rheumatoid arthritis (RA) is 0.5–1.0% with systemic, polyarticular, morning stiffness, destructive and inflammatory cartilage degeneration, destruction of articular and periarticular bone tissue and deformity with a consequent loss of function and inability to work (Smolen et al., 2018). Traditionally, the five cardinal signs of pain,

redness, swelling, loss of function and heat characterize the inflammatory process (Medzhitov, 2010; Ferrero-Miliani et al., 2007) by the activation of several inflammatory/nociceptive mediators. The leukocytes recruitment, alterations in vascular permeability and others processes also play a role in the inflammatory response (Souto et al., 2011). The symptomatic drugs inhibiting the synthesis of prostaglandins are traditionally used in the treatment of RA to reduce pain and edema, such as analgesics or nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Glucocorticoids have anti-inflammatory activity and promote the modification of the disease course, and associated with methotrexate, these compounds have been recommended for use;

* Corresponding author. School of Health Sciences, University Center of Grande Dourados (UNIGRAN), Dourados, MS, 79824-900, Brazil.

E-mail addresses: angela.midori@unigran.br (Â.M. Kuraoka-Oliveira), joyceasadai@gmail.com (J.A.S. Radai), mleitao02@hotmail.com (M.M. Leitão), claudiacardosouems1@gmail.com (C.A. Lima Cardoso), saulo.esf@gmail.com (S.E. Silva-Filho), candida2005@gmail.com (C.A. Leite Kassuya).

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112418>

Received 23 July 2019; Received in revised form 14 November 2019; Accepted 18 November 2019

Available online 23 November 2019

0378-8741/ © 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

Abbreviations

(ANOVA) Analysis of Variance
 CFA (Complete Freund's Adjuvant)
 (COX) Cyclooxygenase
 (DAD) Diode Array Detector
 (EJ) *Eriobotrya japonica*
 (EJL) *Eriobotrya japonica* leaf
 (EJLE) *Eriobotrya japonica* leaf extract
 (Hmox1) Heme oxygenase 1

(ICAM) Intercellular Adhesion Molecule
 (IL) Interleukin
 (LOX) Lipoxygenases
 (SEM) Mean Standard Error
 (NO) Nitric Oxide
 (iNOS) Inducible Nitric Oxide Synthase
 (PPARδ) Peroxisome Proliferator-Activated Receptor delta
 (PPARγ) Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma
 (RA) Rheumatoid Arthritis
 (TNF) Tumor Necrosis Factor

however, glucocorticoids are recommended for short-term use because of adverse effects. Disease-modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs), synthetic or biological (monoclonal antibodies), reduce synovitis and systemic inflammation; however, the use of these drugs increases the risk of infections. Anti-tumor necrosis factor (anti-TNF) or anti-interleukin - 6 (IL- 6) antibodies have also been used in the treatment of RA, but not all patients respond to these therapies (Smolen et al., 2018). Although there has been a great evolution in the treatment of AR in recent decades, these drugs may not promote an adequate response in some patients and may show adverse effects.

Medicinal plants, such as cat's claw and turmeric are on the RENISUS list (list of medicinal plants of interest to the unified health system) (Brasil, 2017) and may be an important alternative in the treatment of chronic inflammation because the leaves of this plant has several active agents that have additive or synergistic pharmacodynamic actions (Zhang et al., 2015). In folk medicine, leaves of *Eriobotrya japonica* Lindl. (Rosaceae family), popularly known as loquat, are traditionally used to treat inflammation (Cha et al., 2011; Ito et al., 2000, Chinese Pharmacopoeia Committee, 2010), and it is delicious fruits are widely consumed by the population. Although it originates in China, *E. japonica* is grown in several countries (Zhou et al., 2007; Liu et al., 2016). Studies on the ethanolic extract of *E. japonica* leaf have shown neuroprotective action (Kim et al., 2011), and buthanolic extract acetic acid-induced writhing test and formalin tests (Cha et al., 2011). Studies on *E. japonica* leaf water extract have also demonstrated anti-allergic properties (Kim and Shin, 2009), and *E. japonica* leaf decoction reduced inflammation (Zar et al., 2014).

E. japonica leaf tea is widely used in folk medicine for the treatment of inflammation, with potential in the treatment of arthritis (Simmonds; Preedy, 2016); however, there are no experimental studies demonstrating these properties (Zhang et al., 2015). Two carrageenan (pleurisy and paw edema) inflammatory models were used to determine the dose response curve, time response curve and anti-inflammatory profile. Zymosan and CFA areas were considered inflammatory articular models to evaluate the infusion obtained from *E. japonica* leaves (EJLE). Thus, this study aimed to evaluate the anti-inflammatory articular and antihyperalgesic properties of EJLE.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals materials

Mitomycin C was obtained from Pharmaceutical Group Co., LTD. (Guangdong, China). Deuterioxide and 3-trimethylsilyl-propionate [2,2,3,3, d4] (TSP), methanol and orthophosphoric acid (Merck Drugs & Biotechnology, Germany), Corosolic, ursolic and oleanolic acids (≥ 98%), carragenan, zymosan, Complete Freund's Adjuvant, and xylazine were obtained from Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA), and quetamina (Rhubiofarma, Brazil), panoptic color (Laborclin, Brazil), Bradford reagent (Bioagency, Brazil), Acetone (Proquimico, Brazil), Turk's solution (New Prov, Brazil), May-Grunwald-Giemsma (New Prov, Brazil), and dexamethasone (Teuto, Brazil) were also obtained.

2.2. Obtaining herbal materials and preparation of the EJLE

The leaves of *E. japonica* were collected (22°12'23,61"S and 54°44'42,21"W) in August 2017 from private property (cultivar), identified by PhD José Luiz Fornasieri and deposited in the Federal University of Grande Dourados (UFGD) herbarium (DDMS5621).

The leaves were dried in a circulating air oven at 37 ± 2 °C and ground in a Willey (Marconi, Brazil) type mill with a 10 mesh sieve. Subsequently, the sample was packaged, labeled and stored at room temperature. The leaves at a concentration of 50 g/l were incubated, in water previously heated to 95–100 °C, for 10 min in an enclosed container (infusion). Subsequently, the extract was lyophilized and stored in a hermetically sealed bottle at –20 °C. The yield was calculated as the ratio between dry plant material and lyophilized material (11.3% mass:mass). The extract was lyophilized in an Alpha 1-2LD Plus Christ instrument with vacuum parameters of 0.045 mbr and a temperature of 42 °C.

2.3. Chromatographic analysis

The extract (10 mg) was solubilized in 10 ml of 30:70 v:v methanol:water. The solution was filtered through a 0.45 µm membrane filter (Millipore, MA, USA). The extract was analyzed in an analytical LC (LC-6AD, Shimadzu, Kyoto, Japan) system with a diode array detector (DAD) monitored at λ = 200–800 nm, and all three compounds were detected at 210 nm. The LC column was a C-18 (25 cm × 4.6 mm; particle size, 5 µm; Luna, Phenomenex, Torrance, CA, USA). In the analysis, the flow rate and the injected volume were set as 0.6 mL/20 µL, respectively. All chromatographic analyses were performed at 23 °C. Elution was carried out using a mobile phase consisting of 90:10 (v/v) MeOH/1.0% (w/v) aqueous orthophosphoric acid.

Standards of the acids (Sigma, ≥ 98%) were prepared at an initial concentration of 1000 µg/ml. The concentrations of corosolic, ursolic and oleanolic acids were determined by external calibration after dilutions appropriated in the range of 1.0–10.0 µg/ml. The analysis was performed in triplicate for each concentration level of standard and extract and injected into the chromatographic system.

2.4. ABTS assay

ABTS + cation radicals were produced by the reaction between 7 mM ABTS in water and 2.45 mM potassium persulfate (1:1) in the dark at room temperature for 16 h before use. The ABTS+ solution was then diluted with methanol to obtain an absorbance of 0.700 at 734 nm. After the addition of 5 µl of plant extract to 3.995 ml of diluted ABTS + solution, the absorbance was measured at 30 min after the initial mixing. An appropriate solvent blank was run in each assay. All measurements were carried out at least three times. The percent inhibition of absorbance at 734 nm was calculated using the formula $ABTS + scavenging\ effect\ (\%) = (AB - AA) / AB \times 100$ (2), where AB is the absorbance of ABTS radical + methanol and AA is the absorbance of ABTS radical + sample extract/standard. Trolox was used as a standard.

2.5. Animals

Swiss (20–30 g), C57Bl/6 mice (24–28 g) and Wistar rats (200–230 g) were obtained from the Central Biotherium of the Federal University of Grande Dourados (UFGD). The mice were accommodated in Setorial Biotherium of the Faculty of Health Sciences (FCS - UFGD) in polypropylene boxes, with a circadian cycle (light/dark 12 h), humidity and a controlled temperature (22 ± 2 °C). Water and feed were made available *ad libitum*. All experiments were approved by the Committee on Ethics in Animal Experimentation (CEUA/UFGD) with protocol of approval nº 30/2017.

2.6. Analysis of leukocyte migration, nitric oxide production, and protein exudation in carrageenan-induced pleurisy model

Swiss female mice (20–30 g) were divided into 6 groups ($n = 6$) and treated by oral route with saline 0.9% (control group), EJLE (with doses of 30, 100, and 300 mg/kg, p.o. EJLE groups), dexamethasone (2 mg/kg, p.o. DEXA group), and saline (naive group). An intrapleural injection of 100 µl of carrageenan (1% diluted in sterile saline) or saline alone (only in naive) was administered as described by Vinegar et al. (1973) after 1 h. At 4 h after carrageenan injection, the animals were anesthetized and submitted to euthanasia with xylazine and ketamine (10 mg/kg and 150 mg/kg, i.p.) to collect intrapleural inflammatory exudate. The pleural cavity was washed with 1 ml of buffered saline plus anticoagulant (PBS/EDTA), and the lavage, together with the pleural exudate, was placed in polyethylene tubes. Thirty microliters of the material was used for leukocyte counting. The total number of leukocytes was determined by an automated hematology unit KX-21N from Sysmex. For the determination of protein extravasation, the Bradford kit (Bioagency, São Paulo, Brazil) was used according to the manufacturer's instruction, and nitric oxide (NO) was determined by the method of Griess.

2.7. Model of edema and hyperalgesia induced by carrageenan

One day before the experiment, the basal mechanical threshold was determined (mechanical sensitivity) using a digital mechanical analgesimeter (VonFrey Insight). Male Swiss mice ($n = 6$ /group) were randomly assigned into three groups: EJLE (100 mg/kg, p.o.), dexamethasone (1 mg/kg, s.c.), and control (saline 0.9%, p.o.). One hundred microliters of the solution with carrageenan (300 µg/paw) was injected after 1 h into the right hind paw of all animals, and saline solution 0.9% was injected into the contralateral paw at the same volume and considered as time zero. The edema was evaluated at 0.5, 1, 2 and 4 h, while mechanical hyperalgesia and cold allodynia were estimated at 3 and 4 h after carrageenan treatment. The paw edema evaluation was made using a plethysmometer (Panlab, Spain) (Henriques et al., 1987). The evaluation of mechanical hyperalgesia was performed after the animals were placed in a containment box with support for the analgesimeter test. The animals were allocated for 30 min to adapt to decrease exploratory behavior and support the four paws on the base. To measure the nociceptive mechanical sensitivity threshold (g) of the paw that received the carrageenan treatment, a digital analgesimeter (Von Frey, Insight) (Möller et al., 1998) was used as a pressure transducer, which records the applied force (in grams) until the moment of paw withdrawal.

Finally, the cold allodynia test was performed according Choi et al. (1994). Thirty microliters of acetone was sprayed on the plantar region of the right hind paw of the animal, and the number of licks from the period in which the animal exhibited cold sensitivity behavior was recorded as licking or rubbing the paw, shaking and withdrawing the paw. The minimum and maximum cut-offs were designated as 5 and 20 s, respectively. Removal of the paw for other reasons, such as locomotion or weight transfer, was not considered.

2.8. Model of articular inflammation induced by zymosan

Swiss female mice were treated: naive (saline 0.9%, p.o.), control (saline 0.9%, p.o.), dexamethasone (1 mg/kg, s.c.), EJLE (100 mg/kg, p.o.). At 1 h post treatment, knee inflammation was induced by intra-articular injection with zymosan (200 µg/10 µl sterile saline) (zymosan A. from *Saccharomyces cerevisiae* - Sigma-Aldrich) through the patellar ligament into the right knee cavity (Yamada et al., 2013) after anesthesia with a mixture of ketamine and xylazine (80 and 5 mg/kg, i.p.). The edema was evaluated at 4 h and 6 h, and mechanical hyperalgesia was evaluated at 3 and 4 h after the application of zymosan. The knee evaluation edema was made by a comparison of the difference between the right and left sides with a digital micrometer Insize at 4 and 6 h after zymosan injection. The mechanical hyperalgesia was performed as described in 2.7 (Möller et al., 1998). The leukocyte migration analysis was performed on the exudate of the intra-articular knee. The animals were submitted to euthanasia at the sixth hour after the induction of arthritis with ketamine and xylazine (80 and 5 mg/kg). Access to the right knee intra-articular cavity was given by surgical incision through the frontal region of the joint and exposure of the femoral-tibial joint line. The intra-articular cavity was washed twice with 5 µl of PBS/EDTA (pH 7.4), and the exudate was collected by aspiration and diluted for white blood cell and differential count.

2.9. Model of persistent inflammation induced by Complete Freund's Adjuvant (CFA)

Male C57Bl/6 mice were randomly distributed into groups ($n = 6$ /group): EJLE (30 or 100 mg/kg, p.o.), dexamethasone (1 mg/kg, s.c.), control and naive (saline, p.o.). At time zero, 20 µl of CFA (suspension of killed *Mycobacterium tuberculosis* in oil) (Larson et al., 1986) was injected into the right hind paw (intraplantar (i.pl)), and 20 µl of saline was injected into the left hind paw, while the naive group was injected with 20 µl of saline in both paws. The edema, mechanical hyperalgesia and cold allodynia were evaluated on days 6, 11, 16 and 22 after application of the CFA, as described in item 2.7.

2.10. Acute oral toxicity study

This experiment was performed with female Wistar rats (200–230 g) and according to OECD 425 - 407 guidelines. The EJLE was administered by gavage (2000 mg/kg), in a single dose, in 1 animal, fasting for 12 h, which was observed after 30 min, 1, 2, 4, 8 and 24 h. As there was no sign of toxicity or death, the same administration was repeated in 4 animals that were observed for the same period, after that all animals remained under observation for 14 days (OECD, 2008; Menegati et al., 2016; Saleem et al., 2017). The five hippocratic parameters were observed daily: consciousness, motor coordination, reflexes (auditory and corneal), central nervous system (ataxia, tremors, sedation, seizure) and autonomic (piloerection, sialorrhea, cyanosis, ptosis and tearing) (Malone; Robichaud, 1962), as well as body weight, water and food consumption. The animals were euthanized by ketamine and xilasin overdose. Organs such as heart, spleen, lungs, liver and kidneys were removed, macroscopically observed and weighed (Traesel et al., 2014).

2.11. Statistical analyses

The data are presented as the mean \pm SEM (standard error of the mean) or mean \pm SD (standard deviation). The differences between the means were evaluated by analysis of variance (ANOVA), followed by the Newman-Keuls posterior test, using GraphPad Prism software. Statistical differences were considered significant, $P < 0.05$.

3. Results

3.1. Chemical composition and antioxidant activity

Corosolic, ursolic and oleanolic acids were identified and quantified in the extract of *E. japonica* (Table 1 and Fig. 11).

The antioxidant activity of the sample was determined using an ABTS assay that presented values of $IC_{50} \geq 34.9 \mu\text{g/ml}$.

3.2. EJLE reduced leukocyte migration, nitric oxide production and total protein extravasation in the carrageenan-induced pleurisy model

The oral administration of EJLE significantly reduced leukocyte migration (Fig. 1A) by 25%, 33%, and 26% at doses of 30, 100 and 300 mg/kg, respectively, while dexamethasone reduced leukocyte migration by 71% compared to control group. The total protein was reduced by 23, 25 and 25% (30, 100, and 300 mg/kg, respectively), while dexamethasone inhibited 31% protein extravasation into the intrapleural space at 4 h after carrageenan injection (Fig. 1B). Finally, the EJLE significantly inhibited the concentration of nitric oxide by 39%, 45% and 33% with doses of 30, 100 and 300 mg/kg, respectively, while dexamethasone reduced the concentration by 43% compared to control group (Fig. 1C).

3.3. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of EJLE on a model of edema induced by carrageenan

In paw edema and hyperalgesia carrageenan-induced model, EJLE (100 mg/kg, p.o.) showed anti-inflammatory activity and a significant difference in edema at all evaluated times, with maximum inhibition at 2 h, inhibiting the formation of edema by 75% compared to control group (Fig. 2A, B, 2C, and 2D). EJLE also demonstrated anti-hyperalgesic and anti-allodynic activity when administered by the oral route. The results showed a significant delayed reaction after 4 h, inhibiting mechanical hyperalgesia by 94% (Fig. 3B) and cold allodynia by 46% compared to control group (Fig. 4B). There was neither allodynia (Fig. 3A) or nociceptive (Fig. 4A) response after 3 h.

3.4. Anti-inflammatory activity of EJLE in articular inflammation induced by zymosan model

In the zymosan-induced articular inflammation model, the oral administration of EJLE (100 mg/kg, p.o.), demonstrated significant anti-inflammatory activity for preventing edema formation after 4 and 6 h (Fig. 5A and B), with 68% inhibition of edema (Figs. 5A) and 100% of hyperalgesia inhibition after 4 h, compared to the control group (Fig. 6B); however, there was no inhibition of hyperalgesia within 3 h (Fig. 6A). The extract also showed reduction of leukocyte migration by $43 \pm 6\%$, compared to control group (similar result to the anti-inflammatory effects of dexamethasone) (Fig. 7).

3.5. Model of persistent edema induced by Complete Freund's Adjuvant (CFA)

In persistent edema induced by CFA model, the oral daily administration of the EJLE (30 mg/kg and 100 mg/kg) for 22 days inhibited the edema formation by 73 ± 2 (Fig. 8B), mechanical hyperalgesia by 100% approximately (day 11 and 22) (Fig. 9) and cold allodynia by 50 ± 8 (day 22) compared to control group (Fig. 10). Differences in morphological characteristics of the right hind paw of each mouse 22 days after CFA injection, can be seen in Fig. 8A.

3.6. Acute oral toxicity

Although medicinal plants have been widely used by the population, toxicological analysis is essential to ensure safe use. In this

experiment, no signs or symptoms of acute and clinical oral toxicity were observed with the use of EJLE in any animal. Thus, we can deduce that the extract has low toxicity and the Lethal Dose 50 (LD50) is above 2000 mg/kg.

4. Discussion

Phytotherapies are considered a complementary and alternative treatment in Brazil for several diseases, including inflammatory diseases and arthritis (Brasil, 2017) because it contains several synergistic bioactives and/or additives and targets several proteins or genes (Zhang et al., 2015). Unfortunately, steroidal and nonsteroidal drugs, although efficient, in acute or prolonged use, are accompanied by adverse effects observed in clinical practice. *E. japonica* has been shown to have anti-inflammatory properties (Cha et al., 2011; Banno et al., 2005; Zar et al., 2014) and is widely used in folk medicine and as food. We opted for the water extract were obtained from infusion according to the folk customs.

The results obtained in the pleurisy model of this study confirmed the anti-inflammatory activity of EJLE, reducing the NO concentration, leukocyte migration and protein extravasation in the pleural exudate. The dose response curve was made in the pleurisy test in mice, but as unexpected, all doses tested (30, 100 and 300 mg/kg) caused a significant reduction in all inflammatory analyses. Thus, we used doses of 30 and/or 100 mg/kg in subsequent tests of paw and articular inflammation. In the time course curve, the greatest inhibition of paw edema was observed at 2 and 4 h after carrageenan paw injection, while significant antinociceptive responses (mechanical and thermal) were only detected at 4 h after carrageenan injection. The main inflammatory mediator produced and released at this time point (in carrageenan inflammation) is prostaglandins (PGE2) through the activation and production of COX-2. Nitric oxide also is involved in the EJLE mechanism of action via the iNOS (through NF- κ B) and/or protein kinase (MAPK) pathway (Kim and Shin, 2009; Uto et al., 2010; Cha et al., 2011; Zhou and Wink, 2019). The inflammatory exudate is formed by the extravasation of plasma and proteins into the inflamed tissue, due to increased vascular permeability during the inflammatory process. Vascular permeability enhances fluid and cellular extravasation which results in localized edema, observed in the inflammatory response. Analysis of protein levels in inflammatory exudate would be useful in measuring the process of reestablishing tissue homeostasis, therefore making them useful in the identification of the factors involved in tissue repair (Buchstein et al., 2009; Nidavani et al., 2014; Cavassan et al., 2018). In pleurisy model, the EJLE treatment reduced proteins level in the pleural exudate in all doses tested, exhibiting a protective effect by reducing protein levels in inflammatory exudate, this effect is similar to that observed in dexamethasone treatment (reference drug).

The methanolic extract from *E. japonica* leaves showed edematogenic and antinociceptive effects on the paw carrageenan model of inflammation in the rats analyzed (Ghaiye et al., 2011). The compound tormentic acid decreased nitric oxide and tumor necrosis factor (TNF- α) levels and decreased carrageenan-induced iNOS and COX-2 expression (Chang et al., 2011; Cha et al., 2011). The novelty of this article is that water extract EJLE were obtained from infusion inhibits both nociception and pleural inflammation of mice undergoing carrageenan-

Table 1
Compounds identified in the *Eriobotrya japonica* leaves.

Retention time (min)	Compounds	Concentration Mean \pm SD (mg/g)
14.33	Corosolic acid	146.9 \pm 2.6
24.29	Oleanolic acid	39.1 \pm 0.9
25.13	Ursolic acid	91.5 \pm 1.2

SD = Standard deviation.

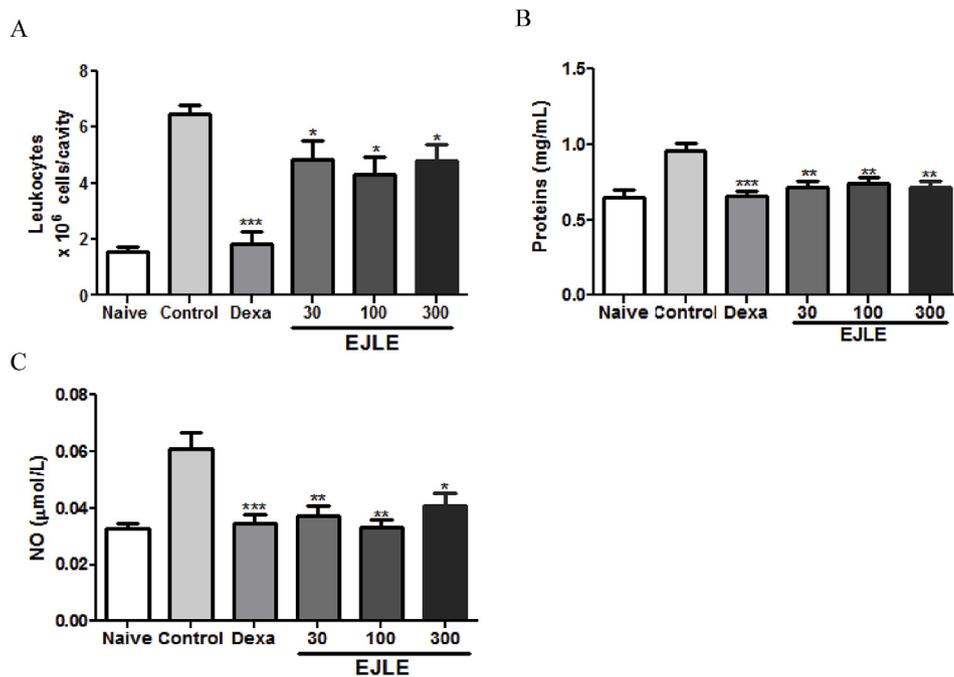


Fig. 1. Effect of the oral administration of EJLE on acute inflammation induced by intrapleural injection of carrageenan in mice. In (A) leukocyte migration x 10⁶ cells/cavity, (B) proteins (mg/ml); (C) nitric oxide (µmol/L). Naïve mice were injected with saline via the intrapleural route, while all other groups received carrageenan. Naïve and control groups received saline solution, 0.9%, orally, the dexamethasone group were treated at 1 mg/kg by i.p. injection, and the EJLE group received 30, 100, or 300 mg/kg of extract orally. The bars express the average ± SEM compared to the control versus treated group or naive group. *P < 0.05; **P < 0.01; #or ***P < 0.001.

induced inflammation.

For the analysis of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of EJLE, an acute articular inflammation induced by zymosan model and a persistent inflammation model induced by CFA were used. Although animal models of arthritis do not fully reproduce the clinical disease, they can contribute to the understanding and development of anti-arthritis therapies (Asquith et al., 2009). The zymosan-induced acute articular inflammation model is monoarthritic in nature (Asquith et al., 2009), associated with neutrophil recruitment and lymphocyte proliferation (Yamada et al., 2013). Zymosan is a cell wall polysaccharide of *Saccharomyces cerevisiae* capable of binding to Toll-like receptor 2 (TLR2) on macrophages, inducing pro-inflammatory

cytokines, and mobilizing arachidonates, as well as promoting protein phosphorylation and activation of the complement pathway (Asquith et al., 2009), inducing inflammation with consequent peripheral edema, cyclooxygenase 2 (COX-2) expression, primary hyperalgesia, central sensitization (Jain et al., 2008) and neutrophil infiltration in synovial tissue (Yamada et al., 2013). In this study, an intense inflammatory reaction induced by zymosan was observed, with increased leukocyte migration to the joint cavity. Treatment with EJLE (100 mg/kg, p.o) inhibited the migration of leukocytes with antihyperalgesic activity in 4 h and prevented the formation of edema in 4 and 6 h. These results strongly indicate the suppressive effect of EJLE on the induction of acute joint inflammation by zymosan.

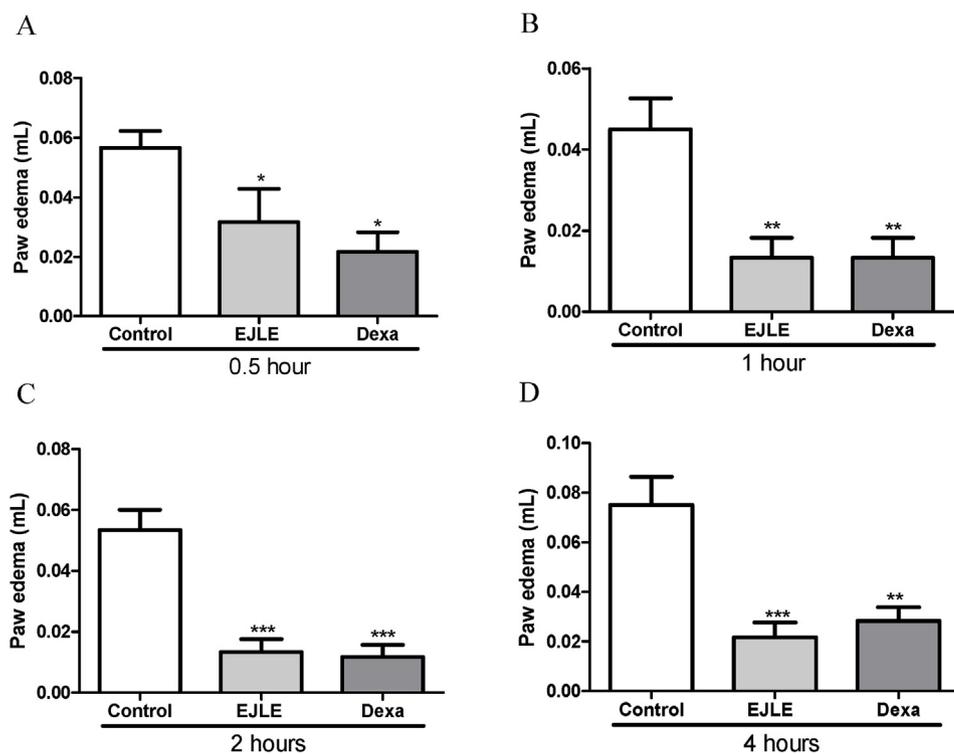


Fig. 2. Effect of the oral administration of EJLE on carrageenan-induced paw edema in mice. The figure shows the values at 0.5 (A), 1 (B), 2 (C) and 4 (D) h after the induction of edema in the control (saline 0.9%, p.o.), EJLE (100 mg/kg, p.o.) and dexamethasone (1 mg/kg, i.p.) groups. The bars express the average ± SEM compared to the control versus treated group. *P < 0.05; **P < 0.01 and ***P < 0.001.

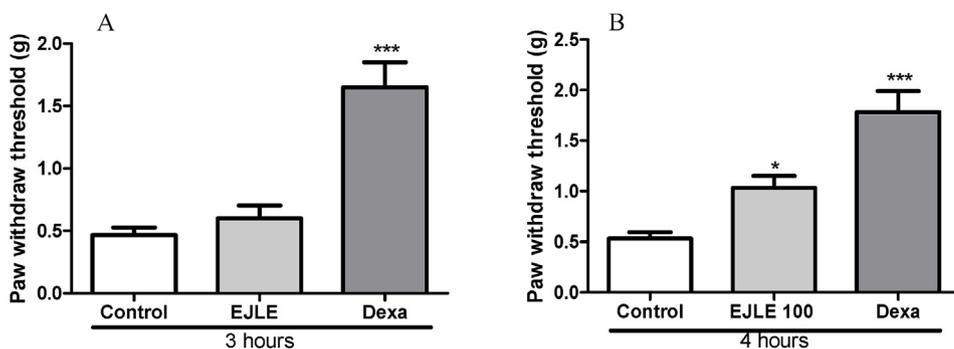


Fig. 3. Effect of oral administration of EJLE on the mechanical sensitivity induced by carrageenan (paw withdrawal threshold) in mice. The figure shows the values of allodynia response at 3 (A) and 4 h (B) after the intraplantar injection of carrageenan. The control group received saline, 0.9%, by oral route, the EJLE group received 100 mg/kg extract orally, while the dexamethasone group received treatment at 1 mg/kg by i.p. The bars express the average \pm SEM compared to the control versus the treated group. * $P < 0.05$ and *** $P < 0.001$.

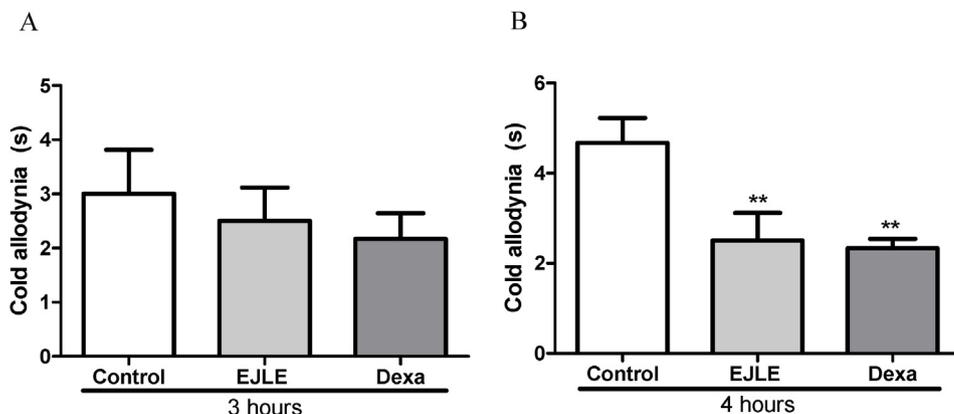


Fig. 4. Effect of oral administration of EJLE on the increase of carrageenan-induced cold hypersensitivity in mice. The figure shows the values of the nociceptive response at 3 (A) and 4 h (B) after the intraplantar injection of carrageenan. The control (saline 0.9%, p.o.), EJLE (100 mg/kg, p.o.) and dexamethasone (1 mg/kg, i.p.) groups. The bars express the average \pm SEM compared to the control versus treated group, ** $P < 0.01$.

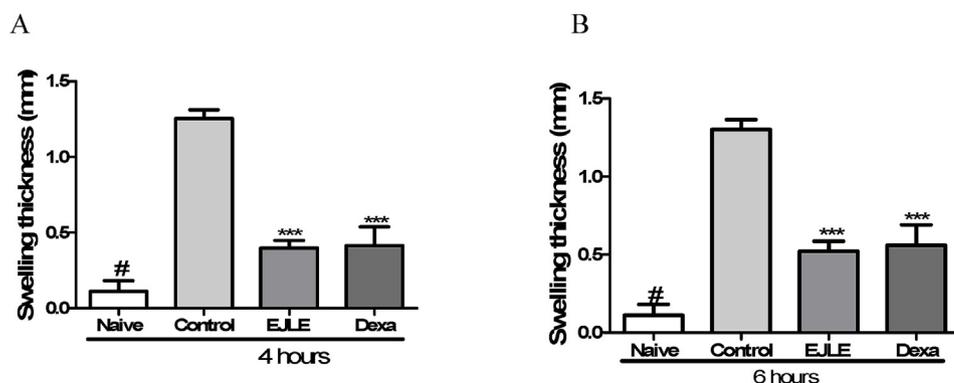


Fig. 5. Effect of the oral administration of EJLE on edema on articular inflammation induced by zymosan model in mice. The figures show the values at 4 (A) and 6 (B) hours after the induction of arthritis in the naive group, control group (saline, 0.9%, p.o.), EJLE group (100 mg/kg, p.o.) and dexamethasone group (1 mg/kg, i.p.). The bars express the mean \pm SEM compared with the control vs. treated group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; # or *** $P < 0.001$.

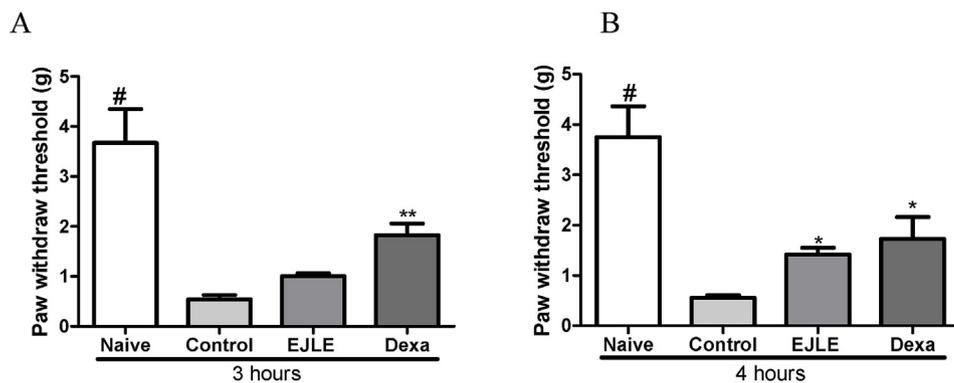


Fig. 6. Effect of the oral administration of EJLE on the increase of mechanical sensitivity (paw withdrawal threshold) in articular inflammation induced by zymosan model in mice. The figures show the values at 3 (A) and 4 (B) h after the procedure of induction of articular inflammation in the naive group, control group (saline 0.9%, p.o.), EJLE group (100 mg/kg, p.o.) dexamethasone group (1 mg/kg, i.p.). The bars express the mean \pm SEM compared with the control vs. treated group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ # or *** $P < 0.001$.

Several studies have shown that in experimental models of zymosan and carrageenan-induced acute inflammation, neutrophils are predominant among the cell types found in inflamed tissue (Silva-Filho et al., 2016; Silva-Comar et al., 2014; Yamada et al., 2013). The leukocytes recruitment to the inflammatory focus is a important step in the

inflammatory response, and act as the first line of phagocytic cells (Souto et al., 2011). This cells play an important role in the defense against infection and innate immunity, removing pathogens from the blood and tissue fluids. Neutrophils are important cells in the acute inflammatory process, being the main circulating phagocyte and are the

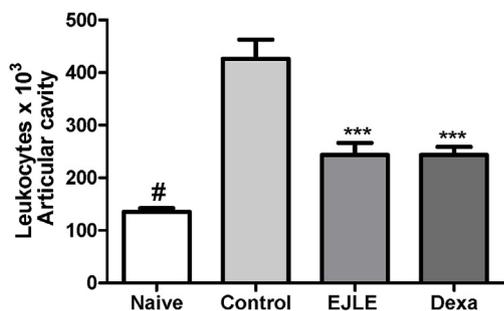


Fig. 7. Effect of the oral administration of EJLE on the leukocyte recruitment in articular inflammation induced by zymosan model in mice. The figure shows the migration of leukocytes in the naive group, control group (saline, 0.9%, p.o.), dexamethasone group (1 mg/kg, i.p.) and EJLE group (100 mg/kg, p.o.). The bars express the mean ± SEM compared with the control vs. treated group, # or ***P < 0.001.

first to arrive at the infectious focus (Uhl et al., 2016). However, the excessive leukocyte infiltration is an important factor that determines the course of inflammatory diseases and contributes to the development of tissue damage. These cells release mediators and lysosomal enzymes, causing damage to the host tissue (Chen et al., 2006). As EJLE reduced the leukocyte migration induced by carrageenan and zymosan it is possible to suggest that EJLE plays a role in neutrophils behavior.

The animal model of CFA-induced inflammatory polyarthritis is widely used in chronic arthritis experiments characterized by synovial membrane infiltration and joint destruction resembling the clinical and pathological features of RA in humans (Pearson, 1956; Zheng et al., 2014). The histological similarities characterize this model as suitable for testing potential drugs for the treatment of RA (Greish et al., 2012). Our study demonstrated that EJLE-treated animals had inhibition in the formation of paw edema and showed reduced mechanical hyperalgesia and cold hypersensitivity at doses of 30 and 100 mg/kg, with anti-

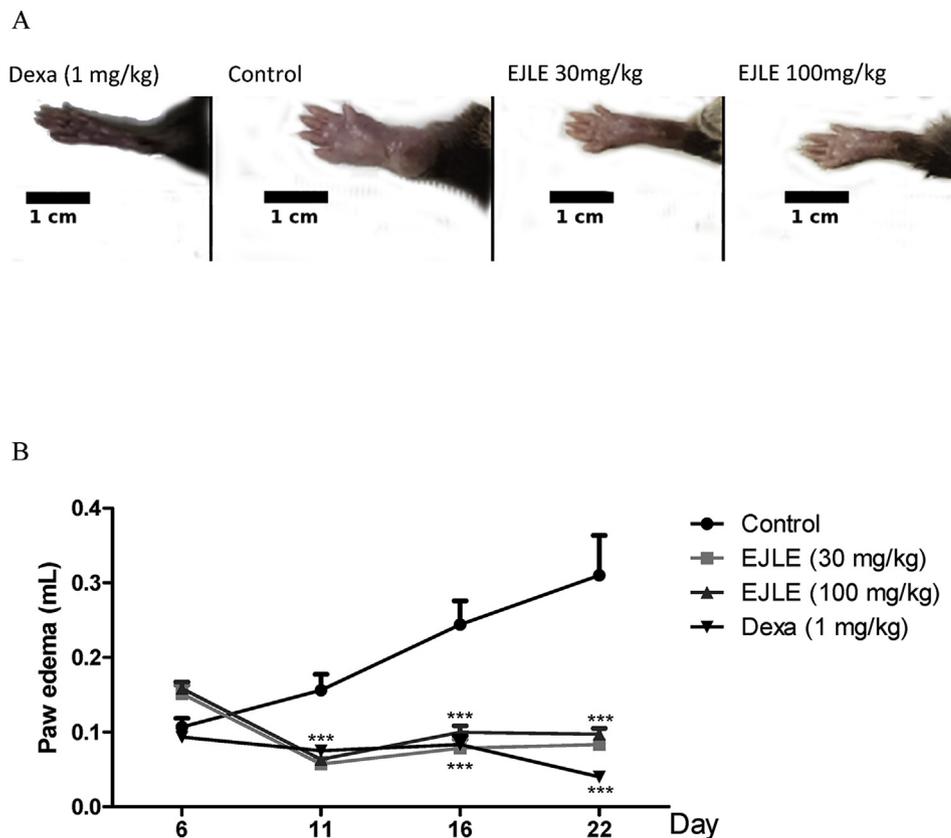


Fig. 8. Effect of the oral administration of EJLE on increases in paw edema in persistent inflammation induced by CFA model. In (A) Morphological characteristics of the right hind paw of each mouse 22 days after CFA injection, along with a ruler, the photos were taken to measure the diameter of each region. The lines in figure (B) show the thickness of paw edema measured at 6, 11, 16 and 22 days after intraplantar CFA injection using a plethysmometer. The animals were treated once a day for 21 days after the arthritic-induced procedures in the control group (saline, 0.9%, p.o.), dexamethasone group (1 mg/kg, i.p.), EJLE group (30 mg/kg, p.o.) and EJLE group (100 mg/kg, p.o.). The points are expressed as the mean ± SEM compared with the control vs. treated group. *P < 0.05; **P < 0.01 or ***P < 0.001.

inflammatory activity.

The triterpenes acids of *E. japonica* leaf were suggested as biologically active and anti-inflammatory (Banno et al., 2005) and the decrease in the production of proinflammatory cytokines (IL-1β, IL-8 and TNF) (Huang et al., 2007), and can be safely administered orally to humans (Li et al., 2017). We identified the components of corosolic acid (146.9 mg/g), oleanolic acid (39.1 mg/g) and ursolic acid (91.5 mg/g) in the EJLE with anti-inflammatory properties. Ursolic acid is a bioactive ingredient with anti-inflammatory properties, which, although it has a relatively low oral bioavailability (10%) because of its low solubility (Zhang et al., 2015), the chemical analysis of the EJLE composition used in this experiment detected a high concentration of ursolic acid, which may increase its oral bioavailability value by ensuring the pharmacological effects of the acid.

Of the 53 targets related to inflammation, 43 bind to 11 anti-inflammatory compounds of the *E. japonica* leaf. Of these, six anti-inflammatory therapeutic targets (COX2, COX1, ALOX5, ICAM1 and PPARγ-PPARδ) signaled the similarity of *E. japonica* to Western medicines, while the proinflammatory cytokines (TNF, IL1A, IL1B, IL2, IL5 and IL8) and anti-inflammatory cytokines (IL4 and IL10) indicate that *E. japonica* leaf can regulate these therapeutic targets (Zhang et al., 2015). Anti-edematous activity suggests that the action of *E. japonica* leaves can be attributed to the suppression of the release of mediators of inflammation, including prostaglandin E2 (PGE2) and COX-2 (Setty; Sigal, 2005), as well as the suppression of nitric oxide synthesis by the reduction of the expression of enzymes, such as nitric oxide synthase (iNOS) and COX2 (Matalka et al., 2007) via inhibition of NF-κB expression and nuclear translocation (Zhou and Wink, 2019). On the other hand, the COX-1 enzyme, predominant in normal tissues, is responsible for maintaining the integrity of renal function, gastric mucosa and, consequently, homeostasis; COX-2, predominant in inflamed tissue, promotes increased prostaglandin production (Seibert et al., 1997). However, the interactions of *E. japonica* leaves with several targets can reduce the adverse effects of this plant because it is related

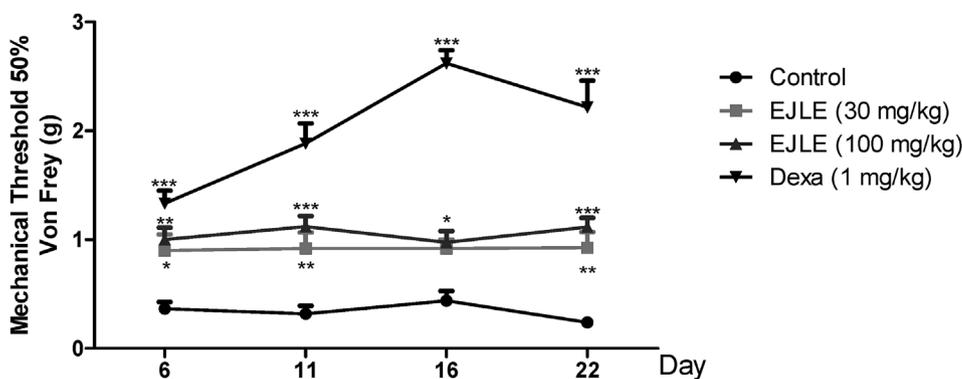


Fig. 9. Effect of the oral administration of EJLE on increases in mechanical sensitivity (paw withdrawal threshold) in persistent inflammation induced by CFA model. The figure shows the values at 6, 11, 16 and 22 days after the intraplantar injection of CFA. The lines represent the control group (saline, 0.9%), dexamethasone (1 mg/kg, i.p.), EJLE (30 mg/kg, p.o.) and EJLE (100 mg/kg, p.o.) groups. The animals were treated once a day for 22 days after the arthritic-induced procedures. The points are expressed as the mean ± SEM compared with the control vs. treated group. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ or *** $P < 0.001$.

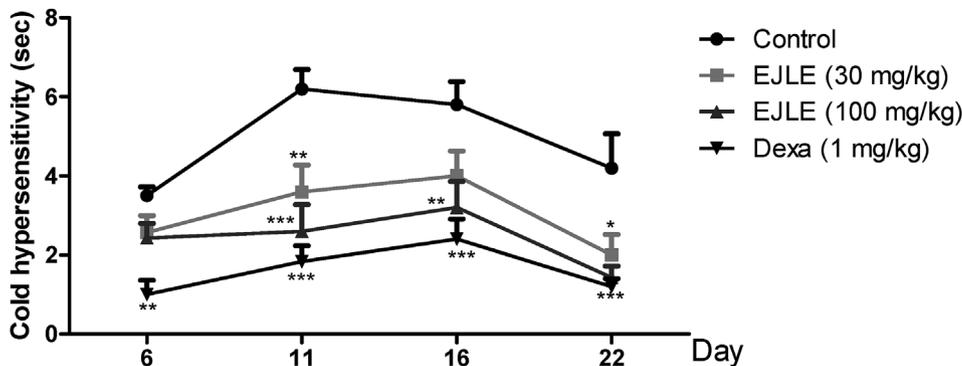


Fig. 10. Effect of the oral administration of EJLE on cold hypersensitivity (paw withdrawal threshold) in persistent inflammation induced by CFA model. The figure shows the values at 6, 11, 16 and 22 days after the intraplantar injection of CFA. The lines represent the control (saline, 0.9%), dexamethasone (1 mg/kg, i.p.), EJLE (30 mg/kg, p.o.) and EJLE (100 mg/kg, p.o.) groups. Animals were treated once a day for 21 days after the arthritic-induced procedures. The points are expressed as the mean ± SEM compared with the control vs. treated group. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ or *** $P < 0.001$.

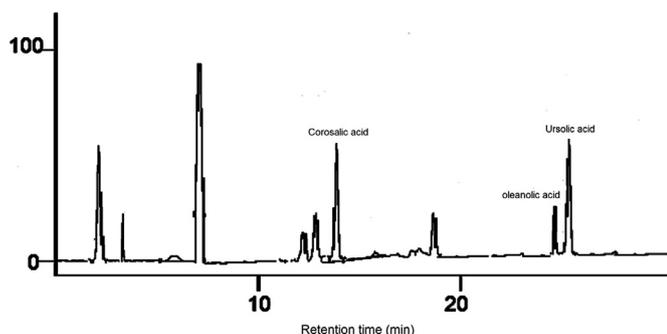


Fig. 11. HPLC chromatogram obtained, of *Eriobotrya japonica* leaf.

to seven other targets (MAPK14, PPAR γ , RelA, TNF, MAPK8, Hmox1, and CXCL10), and together with COX1, these proteins are able to compensate for the adverse gastrointestinal effects, resulting in synergistic or additive anti-inflammatory action, thus gaining an advantage over Western monotherapy (Zhang et al., 2015).

Despite the consumption of medicinal plants by the population and the belief that natural plants or products are safe and free of side effects, medicinal plants can be dangerous (López-Gil et al., 2017; He et al., 2019; Lin et al., 2019). To ensure the safety of an herbal compound for human use, toxicological studies are necessary to determine potential side effects and to provide information about choosing safe doses for clinical use. In the present study the acute toxicity test was performed and during the acute toxicity test, there were no deaths or any signs of toxicity observed after the administration of the EJLE, according to OECD (2008), and substances ingested by oral route and having LD50 value > 2000 mg/kg are considered as relatively safe. Li et al. (2017) performed acute and subacute toxicity tests with *Eriobotrya japonica* leaf triterpene acid and our results were similar to acute toxicity. In these experiments, no signs or symptoms of acute and clinical oral toxicity were observed with the use of EJLE in any animal. Thus, we can deduce that the extract has low toxicity and the Lethal Dose (LD) 50 is above

2000 mg/kg, suggesting safety after acute exposure (OECD, 2008; Li et al., 2017). Other toxicity tests, for example subacute and chronic toxicity tests should be performed to confirm safety after continued use.

In conclusion, this study demonstrated that EJLE may be an excellent complementary treatment of acute or chronic articular inflammation and should be considered a strong candidate for future studies on arthritis. The study of acute toxicity indicated that single administration of EJLE by oral route did not cause any lethality and no changes in general behavior in rats.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no conflicts of interest in this work.

Acknowledgments

The authors are grateful to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS) and Centro Universitário da Grande Dourados (UNIGRAN) for financial support and to PhD José Luiz Fornasieri (Universidade Federal da Grande Dourados - Mato Grosso do Sul - UFGD-MS) for plant identification.

References

Asquith, D.L., Miller, A.M., McInnes, I.B., Liew, F.Y., 2009. Animal models of rheumatoid arthritis. *Eur. J. Immunol.* 39 (8), 2040–2044. <https://doi.org/10.1002/eji.200939578>.
 Banno, N., Akihisa, T., Tokura, H., Yasukawa, K., Taguchi, Y., Akazawa, H., Ukiya, M., Kimura, Y., Suzuki, T., Nishino, H., 2005. Anti-inflammatory and antitumor-promoting effects of the triterpene acids from the leaves of *Eriobotrya japonica*. *Biol. Pharm. Bull.* 28 (10), 1995–1999. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.1995>.
 Barbour, K.E., Moss, S., Croft, J.B., Helmick, C.G., Theis, K.A., Brady, T.J., Murphy, L.B., Hootman, J.M., Greenlund, K.J., Lu, H., Wang, Y., 2018. Geographic variations in

arthritis prevalence, health-related characteristics, and management - United States, 2015. *MMWR Surveill Summ* 67 (4), 1–28. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6704a1>.

Brasil: Ministério da saúde, 2017. RENISUS. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde.

Buchstein, N., Hoffmann, N., Smola, H., Lang, S., Paulsson, M., Niemann, C., Krieg, T., Eming, S.A., 2009. Alternative proteolytic processing of hepatocyte growth factor during wound repair. *Am. J. Pathol.* 174 (6), 2116–2128. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080597>.

Cavassan, N.R.V., Camargo, C.C., Pontes, L.G., Barraviera, B., Ferreira, R.S., Miot, A.M., Abbade, L.P.F., Dos Santos, L.D., 2018. Correlation between chronic venous ulcer exudate proteins and clinical profile: a cross sectional study. *J. Proteom.* 192 (Feb 10), 280–290. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.09.009>.

Cha, D.S., Eun, J.S., Jeon, H., 2011. Anti-inflammatory and antinociceptive properties of the leaves of *Eriobotrya japonica*. *J. Ethnopharmacol.* 134 (2), 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.12.017>.

Chang, C.T., Huang, S.S., Lin, S.S., Ho, S.A.H., Hou, W.C., Shie, P.H., Wu, J.B., Huang, G.J., 2011. Anti-inflammatory activities of tormentic acid from suspension cells of *Eriobotrya japonica* ex vivo and in vivo. *Food Chem.* 127 (3), 1131–1137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.114>.

Chen, M., Lam, B.K., Kanaoka, Y., Nigrovic, P.A., Audoly, L.P., Austen, K.F., Lee, D.M., 2006. Neutrophil-derived leukotriene B 4 is required for inflammatory arthritis. *J. Exp. Med.* 203 (4), 837–842. <https://doi.org/10.1084/jem.20052371>.

Chinese Pharmacopoeia Committee, 2010. Chinese Pharmacopoeia, vol. 1 Chinese Medical Science and Technology Press, Beijing, China.

Choi, Y., Yoon, Y.W., Na, H.S., Kom, S.H., 1994. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain* 59 (3), 369–376. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90023-x](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)90023-x).

Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O.H., Andersen, P.S., Girardin, S.E., 2007. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clin. Exp. Immunol.* 147 (2), 227–235. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x>.

Ghaiye, P., Sharma, K., Kumar, N., Niazi, J., Gupta, V., Bansal, P., 2011. Anti-inflammatory and antipyretic activity of *Eriobotrya japonica* leaves. *J. Pharm. Res.* 4 (4), 1147–1148.

Greish, S., Abogresha, N., Abdel-Hady, Z., Zakaria, E., Ghaly, M., Hefny, M., 2012. Human umbilical cord mesenchymal stem cells as treatment of adjuvant rheumatoid arthritis in a rat model. *World J. Stem Cells* 4 (10), 101–109. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v4.i10.101>.

He, S., Zhang, C., Zhou, P., Zhang, X., Ye, T., Wang, R., Sun, G., Sun, X., 2019. Herb-induced liver injury: phylogenetic relationship, structure-toxicity relationship, and herb-ingredient network analysis. *Int. J. Mol. Sci.* 25 (15), 3633. <https://doi.org/10.3390/ijms20153633>.

Henriques, M.G., Silva, P.M., Martins, M.A., Flores, C.A., Cunha, F.Q., Assreuy-Filho, J., Cordeiro, R.S., 1987. Mouse paw edema. A new model for inflammation? *Braz. J. Med. Biol. Res.* 20 (2), 243–249.

Huang, Y., Li, J., Wang, R., Wu, Q., Li, Y.H., Yu, S.C., Cheng, W.M., Wang, Y.Y., 2007. Effect of triterpene acids of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. leaf on inflammatory cytokine and mediator induction from alveolar macrophages of chronic bronchitic rats. *Inflamm. Res.* 56 (2), 76–82. <https://doi.org/10.1007/s00011-006-5185-0>.

Ito, H., Kobayashi, E., Takamatsu, Y., Li, S.H., Hatano, T., Sakagami, H., Kusama, K., Satoh, K., Sugita, D., Shimura, S., Itoh, Y., Yoshida, T., 2000. Polyphenols from *Eriobotrya japonica* and their cytotoxicity against human oral tumor cell lines. *Chem. Pharm. Bull.* 48 (5), 687–693. <https://doi.org/10.1248/cpb.48.687>.

Jain, N.K., Ishikawa, T.O., Spiegelman, I., Herschman, H.R., 2008. COX-2 expression and function in the hyperalgesic response to paw inflammation in mice. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 79 (6), 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2008.08.001>.

Kim, M.J., Lee, J., Seong, A.R., Lee, Y.H., Kim, Y.J., Baek, H.Y., Kim, Y.J., Jun, W.J., Yoon, H.G., 2011. Neuroprotective effects of *Eriobotrya japonica* against β -amyloid-induced oxidative stress and memory impairment. *Food Chem. Toxicol.* 49 (4), 780–784. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.11.043>.

Kim, S.H., Shin, T.Y., 2009. Anti-inflammatory effect of leaves of *Eriobotrya japonica* correlating with attenuation of p38 MAPK, ERK, and NF- κ B activation in mast cells. *Toxicol. In Vitro* 23 (7), 1215–1219. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.07.036>.

Larson, A.A., Brow, D.R., el-Atrash, S., Walsler, M.M., 1986. Pain threshold changes in adjuvant-induced inflammation: a possible model of chronic pain in the mouse. *Pharmacol., Biochem. Behav.* 24 (1), 49–53. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(86\)90043-2](https://doi.org/10.1016/0091-3057(86)90043-2).

Li, F., Li, Y., Li, Q., Shi, X., Guo, Y., 2017. Acute and subacute oral toxicity evaluation of *Eriobotrya japonica* leaf triterpene acids in ICR mice. *Evid. Based Complement Altern. Med.* 2017, 9. <https://doi.org/10.1155/2017/4837839>.

Lin, N.H., Yang, H.W., Su, Y.J., Chang, C.W., 2019. Herb induced liver injury after using herbal medicine: a systemic review and case-control study. *Medicine (Baltim.)* 98 (13), e14992. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014992>.

Liu, Y., Zhang, W., Xu, C., Li, X., 2016. Biological activities of extracts from loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.): a review. *Int. J. Mol. Sci.* 17 (12), 1983. <https://doi.org/10.3390/ijms17121983>.

López-Gil, S., Nuño-Lámbarrí, N., Chávez-Tapia, N., Uribe, M., Barbero-Becerra, V.J., 2017. Liver toxicity mechanisms of herbs commonly used in Latin America. *Drug Metab. Rev.* 49 (3), 338–356. <https://doi.org/10.1080/03602532.2017.1335750>.

Malone, M.H., Robichaud, R.C., 1962. A hippocratic screen for pure or crude drug materials. *J. Nat. Prod. (Lloydia)* 25 (2), 320–331.

Matalaka, K.Z., Ali, D., Khawad, A.E., Qa'dan, F., 2007. The differential effect of *Eriobotrya japonica* hydrophilic leaf extract on cytokines production and modulation. *Cytokine* 40 (3), 235–240. <https://doi.org/10.1016/j.cyt.2007.10.003>.

Medzhitov, R., 2010. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell* 140 (6), 771–776. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.006>.

Menegati, S.E., Freitas de Lima, F., Traesel, G.K., Souza, R.I., Dos Santos, A.C., de Santana Aquino, D.F., de Oliveira, V.S., Heredia Vieira, S.C., Cardoso, C.A., Vieira, M.D., Oesterreich, S.A., 2016. Acute and subacute toxicity of the aqueous extract of *Alibertia edulis* (Rich.) A. Rich. ex DC. in rats. *J. Ethnopharmacol.* 24, 1096–1102. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.11.003>.

Möller, K.A., Johansson, B., Berge, O.G., 1998. Assessing mechanical allodynia in the rat paw with a new electronic algometer. *J. Neurosci. Methods* 84 (1–2), 41–47. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(98\)00083-1](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(98)00083-1).

Nidavani, R.B., Mahalakshmi, A.M., Shalawadi, M., 2014. Vascular permeability and Evans blue dye: a physiological and pharmacological approach. *J. Appl. Pharm. Sci.* 4 (11), 106–113. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.41119>. https://www.researchgate.net/publication/267214211_Vascular_permeability_and_Evans_blue_dye_a_physiological_and_pharmacological_approach.

OECD, 2008. Organisation for economic Co-operation and development. In: CHEMICALS, O. G. F. T. O. (Ed.), Guideline 425: Acute Oral Toxicity – Up-And-Down-Procedure (UDP) 27 Fed of Publications Service, Paris. <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feeds/oecd/oecd425.pdf>.

Pearson, C.M., 1956. Development of arthritis, peri-arthritis and periostitis in rats given adjuvants. *PSEBM (Proc. Soc. Exp. Biol. Med.)* 91 (1), 95–101. <https://doi.org/10.3181/00379727-91-22179>.

Saleem, U., Amin, S., Ahmad, B., Azeem, H., Anwar, F., Mary, S., 2017. Acute oral toxicity evaluation of aqueous ethanolic extract of *Saccharum munja* Roxb. roots in albino mice as per OECD 425 TG. *Toxicol. Rep.* 31 (4), 580–585. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.10.005>.

Seibert, K., Zhang, Y., Leahy, K., Hauser, S., Masferrer, J., Isakson, P., 1997. Distribution of COX-1 and COX-2 in normal and inflamed tissues. *Adv. Exp. Med. Biol.* 400A, 167–170. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5325-0_24.

Setty, A.R., Sigal, L.H., 2005. Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: mechanisms of action, efficacy, and side effects. *Semin. Arthritis Rheum.* 34 (6), 773–784. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2005.01.011>.

Silva-Comar, F.M.S., Würzler, L.A.M., Silva-Filho, S.E., Kummer, R., Pedrosa, R.B., Spironello, R.A., Silva, E.L., Bersani-Amado, C.A., Cuman, R.K.N., 2014. Effect of estragole on leukocyte behavior and phagocytic activity of macrophages. *Evid. Based Complement Altern. Med.* 2014, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2014/784689>.

Silva-Filho, S.E., Würzler, L.A.M., Cavalcante, H.A.O., Uchida, N.S., De Souza Silva-Comar, F.M., Cardia, G.F.E., Da Silva, E.L., Aguiar, R.P., Bersani-Amado, C.A., Cuman, R.K.N., 2016. Effect of patchouli (*Pogostemon cablin*) essential oil in vitro and in vivo leukocytes behavior in acute inflammatory response. *Biomed. Pharmacother.* 84, 1697–1704. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.10.084>.

Simmonds, M., Preedy, V.R., 2016. Nutritional Composition of Fruit Cultivars. Academic Press, London, pp. 796.

Smolen, J.S., Aletaha, D., Barton, A., Burmester, G.R., Emery, P., Firestein, G.S., Kavanaugh, A., McInnes, I.B., Solomon, D.H., Strand, V., Yamamoto, K., 2018. Rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 4, 1–23. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.1>.

Souto, F.O., Zarpelon, A.C., Staurengo-Ferrari, L., Fattori, V., Casagrande, R., Fonseca, M.J., Cunha, T.M., Ferreira, S.H., Cunha, F.Q., Verri JR., W.A., 2011. Quercetin reduces neutrophil recruitment induced by CXCL8, LTb4, and fMLP: inhibition of actin polymerization. *J. Nat. Prod.* 74 (2), 113–118. <https://doi.org/10.1021/np1003017>.

Traesel, G.K., Souza, J.C., Barros, A.L., Souza, M.A., Schmitz, W.O., Muzzi, R.M., Oesterreich, S.A., Arena, A.C., 2014. Acute and subacute (28 days) oral toxicity assessment of the oil extracted from *Acrocomia aculeata* pulp in rats. *Food Chem. Toxicol.* 74, 320–325. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.10.026>.

Uhl, B., Vadlau, Y., Zuchtriegel, G., Nekolla, K., Sharaf, K., Gaertner, F., Massberg, S., Krombach, F., Reichel, C.A., 2016. Aged neutrophils contribute to the first line of defense in the acute inflammatory response. *Blood* 128 (19), 2327–2337. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-05-718999>.

Uto, T., Suangkaew, N., Morinaga, O., Kariyazono, H., Oiso, S., Shoyama, Y., 2010. *Eriobotrya folium* extract suppresses LPS-induced iNOS and COX-2 expression by inhibition of NF- κ B and MAPK activation in murine macrophages. *Am. J. Chin. Med.* 38 (5), 985–994. <https://doi.org/10.1142/S0192415X10008408>.

Vinegar, R., Traux, J.F., Selph, J.L., 1973. Some quantitative temporal characteristic of carrageenin-induced pleurisy in the rat. *PSEBM (Proc. Soc. Exp. Biol. Med.)* 143 (3), 711–714. <https://doi.org/10.3181/00379727-143-37397>.

Yamada, A.N., Grespán, R., Yamada, Á., Silva, E.L., Silva-Filho, S.E., Damião, M.J., De Oliveira Dalalio, M.M., Bersani-Amado, C.A., Cuman, R.K., 2013. Anti-inflammatory activity of ocimum americanum L. Essential oil in experimental model of zymosan-induced arthritis. *Am. J. Chin. Med.* 41 (4), 913–926. <https://doi.org/10.1142/S0192415X13500614>.

Zar, P.P.K., Morishita, A., Hashimoto, F., Sakao, K., Fujii, M., Wada, K., Hou, D.X., 2014. Anti-inflammatory effects and molecular mechanisms of loquat (*Eriobotrya japonica*) tea. *J. Funct. Foods* 6, 523–533. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.11.019>. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464613002879>.

Zhang, J., Li, Y., Chen, S.-S., Zhang, L., Wang, J., Yang, W., Zhang, S., Pan, Y., Wang, Y., Yang, L., 2015. Systems pharmacology dissection of the anti-inflammatory mechanism for the medicinal herb *folium eriobotryae*. *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2), 2913–2941. <https://doi.org/10.3390/ijms16022913>.

Zheng, C.J., Zhao, X.X., Ai, H.W., Lina, B., Hana, T., Jianga, Y.P., Xing, X., Qina, L.P., 2014. Therapeutic effects of standardized Vitexnegundo seeds extract on complete Freund's adjuvant induced arthritis in rats. *Phytomedicine* 21 (6), 838–846. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.02.003>.

Zhou, J.-X., Wink, M., 2019. Evidence for anti-inflammatory activity of isoliquiritigenin, 18 β glycyrrhetic acid, ursolic acid, and the traditional Chinese medicine plants *Glycyrrhiza glabra* and *Eriobotrya japonica*, at the molecular level. *Medicines* 6 (2), 55. <https://doi.org/10.3390/medicines6020055>.

Zhou, C.H., Xu, C.J., Sun, C.D., Li, X., Chen, K.S., 2007. Carotenoids in white- and red-fleshed loquat fruits. *J. Agric. Food Chem.* 55 (19), 7822–7830. <https://doi.org/10.1021/jf071273h>.

CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou que o extrato aquoso da folha de *E. japonica* é uma excelente alternativa para o tratamento complementar de artrite aguda e crônica, por ser capaz de reduzir a dor e a inflamação, e pode ser considerado como um forte candidato para futuros estudos na artrite. Também concluímos que o extrato possui baixa toxicidade uma vez que a toxicidade aguda indicou que a administração em uma única dose de EJLE por via oral não causou nenhuma letalidade ($DL_{50} > 2000$ mg/kg) e alteração no comportamento geral em ratos.

ANEXO A: Aprovação do Comitê de ética de experimentação animal (CEUA)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Dourados-MS, 30 de março de 2018.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "*Análise toxicológica e estudo do efeito antidepressivo, antihiperalgésico e anti-inflamatório da Eriobotrya japonica*", registrada sob o protocolo de nº 30/2017, sob a responsabilidade de *Cândida Aparecida Leite Kassuya e Ângela Midori Kuraoka de Oliveira* – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata, subfilo Vertebrata* (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFGD) da Universidade Federal da Grande Dourados, em reunião de 18/08/2017.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	02/04/2018 a 28/06/2020
Espécie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus</i> – Wistar / <i>Mus musculus</i>
Nº de animais	432
Peso/idade	50 dias
Sexo	Wistar - 56 machos e 05 fêmeas / Swiss – 315 machos e 56 fêmeas
Origem	Biotério Central da Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD

Melissa Negrão Sepulveda
Coordenadora CEUA

ANEXO B: Cadastro SISGEN



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Certidão
Cadastro nº A15AB1D

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **A15AB1D**
 Usuário: **Ângela Midori Kuraoka de Oliveira**
 CPF/CNPJ: **704.402.801-25**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Eriobotrya japonica
Eriobotrya japonica (Thunb.) Lindl.

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável
 Título da Atividade: **Extrato de atividade anti-inflamatória e anti-artrítica das folhas de Eriobotrya japonica.**

Equipe

Ângela Midori Kuraoka de Oliveira	Centro Universitário da Grande Dourados
Cândida Aparecida Leite Kassuya	Universidade Federal da Grande Dourados
Joyce Alencar Santos Radai	Universidade Federal da Grande Dourados
Maicon Matos Leitão	Universidade Federal da Grande Dourados
Claudia Andrea Lima Cardoso	Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul
Saulo Euclides Silva-Filho	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

Data do Cadastro: **23/10/2018 17:42:20**
 Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 10:09 de 28/06/2019.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**