

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - CAMPUS DE CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E SAÚDE – MESTRADO/
DOUTORADO

LETICIA MASSOCHIM DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE *Curcuma longa* L. SOBRE AS
ALTERAÇÕES FUNCIONAIS, INFLAMATÓRIAS E MORFOLÓGICAS DO ÍLEO EM
MODELO DE ARTRITE REUMATOIDE**

CASCAVEL-PR
(Fevereiro/2024)

LETICIA MASSOCHIM DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE *Curcuma longa* L. SOBRE AS
ALTERAÇÕES FUNCIONAIS, INFLAMATÓRIAS E MORFOLÓGICAS DO ÍLEO EM
MODELO DE ARTRITE REUMATOIDE**

DISSERTAÇÃO apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde – Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde.

Área de concentração: Biologia, processo saúde-doença e políticas de saúde

ORIENTADORA: Rose Meire Costa

COORIENTADORA: Angelica Soares

CASCADEL-PR

(Fevereiro/2024)

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Assinatura: *Leticia Massochim da Silva* Data 20 / 01 / 2025

O presente estudo foi realizado com auxílio da CAPES através do Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP) pelo Auxílio Financeiro a Projeto Educacional ou de Pesquisa (AUXPE), com processo de número 88881.594204/2020-01, com auxílio número 1359/202.

FICHA CATALOGRAFICA

Massochim da Silva, Leticia

Avaliação da suplementação de Curcuma longa L. sobre as alterações funcionais, inflamatórias e morfológicas do íleo em modelo de artrite reumatoide / Leticia Massochim da Silva; orientadora Rose Meire Costa; coorientadora Angelica Soares. -- Cascavel, 2025.

67 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Cascavel) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em BioCiências e Saúde, 2025.

1. Açafrão-da-Terra. 2. adjuvante de Freund. 3. doenças autoimunes. 4. intestino delgado. I. Costa, Rose Meire, orient. II. Soares, Angelica, coorient. III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Reitoria
CNPJ 78.680.337/0001-84
Rua Universitária, 1819, Jardim Universitário
Tel.: (45) 3220-3000 - Fax: (45) 3225-4590 - www.unioeste.br
CEP: 85819-110 - Cx. P.: 701
Cascavel - PARANÁ



LETICIA MASSOCHIM DA SILVA

**Avaliação da suplementação de *Cúrcuma longa* L. sobre as alterações funcionais ,
inflamatórias e morfológicas do íleo em modelo de artrite reumatoide**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biociências e Saúde, área de concentração Biologia, processo saúde-doença e políticas de saúde, linha de pesquisa Fatores que influenciam a morfofisiologia orgânica, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

Orientador(a) - Rose Meire Costa

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Luzmarina Hernandes

Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Cascavel, 29 de fevereiro de 2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Maria Alice e Onassis, e meu irmão, Onassis, por todo amor, apoio e incentivo nesses anos e em todos os momentos da minha vida.

Às minhas orientadoras, professoras Rose e Angelica, agradeço por todo o conhecimento, dedicação, orientações e paciência em todos os anos de orientação.

A toda a minha família, pelo apoio, incentivo e compreensão.

Aos amigos e colegas do LABEF e LABEM, Mikael, Flávia, Michele e Maiara, pelo companheirismo e ajuda ao longo do experimento. À Amanda, Maryanna, Jussara, Beatriz e Juliana, por sempre estarem dispostas a me ajudar, e à Gabriella, Ana Caroline, Lilian, Thaís e Rafaella, pelas companhias, ajudas e amizade.

Aos meus amigos de fora do mundo acadêmico, obrigada por estarem comigo celebrando cada momento.

RESUMO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune, crônica e sistêmica, caracterizada pela inflamação de articulações. Nos intestinos, as alterações da AR incluem úlceras, vasculite e atrofia da parede intestinal. Alternativas ao tratamento tradicional da AR têm sido estudadas com o uso da cúrcuma (*Curcuma longa* L.), planta originária da Índia, comumente utilizada na culinária, e que, do rizoma, se extrai a curcumina, conhecida também por ser anti-inflamatória e antimicrobiana. Dessa forma, o estudo objetivou analisar os efeitos da suplementação de *Curcuma longa* sobre a estrutura histomorfológica do íleo em modelo experimental de artrite reumatoide por Adjuvante Completo de Freund (CFA). Ratos *Wistar*, com idade média de 14 semanas e peso médio de 340 g, foram separados aleatoriamente nos grupos (n=7/grupo): Controle (CON), Cúrcuma (CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma (ACM). Os grupos A e ACM foram induzidos à AR mediante injeção de CFA na base da cauda e, posteriormente, no interior da cápsula da articulação tibiofibular. Após 24 horas, foi iniciada a suplementação com extrato seco de *C. longa*, realizada por gavagem durante 15 dias consecutivos, nos grupos CM e ACM, com dose de 100 mg/kg/dia. Os animais de todos os grupos foram submetidos a cinco avaliações funcionais para avaliar quanto ao edema e incapacitação articular, força de preensão e nocicepção. A eutanásia foi realizada no 24º dia de experimento. O íleo foi coletado e seu segmento proximal foi processado e submetido à coloração com hematoxilina-eosina para análise histomorfométrica de altura e largura dos vilos, profundidade das criptas, espessura total da parede intestinal e da túnica muscular e para quantificação de linfócitos intraepiteliais. O segmento distal do íleo foi fixado e submetido à coloração de Giemsa, para quantificação e análise morfométrica da população total de neurônios mioentéricos. Foi realizado teste de modelo generalizado misto seguido de pós-teste de Fisher (LDS) para todos os parâmetros analisados ($p < 0,05$). O peso corporal e as gorduras perigonadal e retroperitoneal não variaram significativamente entre os grupos. A indução de AR provocou aumento de edema articular e do tempo de elevação de pata, além de redução na força de preensão e na nocicepção nos grupos A e ACM. No íleo, a largura dos vilos foi reduzida nos grupos CM, A e ACM. Os demais parâmetros histomorfométricos e a quantificação de linfócitos intraepiteliais foram semelhantes entre os grupos, assim como a densidade total e a área dos corpos celulares dos neurônios mioentéricos. Os resultados demonstraram que a AR causou estado de inflamação, comprometendo as funções motoras e nociceptivas, que não foram revertidas pela cúrcuma. Embora não tenham sido detectados efeitos na população mioentérica total, alterações na mucosa intestinal induzidas pela AR e pela cúrcuma inferem que a homeostase intestinal foi influenciada.

Palavras-Chave: Açafrão-da-Terra; adjuvante de Freund; doenças autoimunes; intestino delgado; plexo mioentérico.

ABSTRACT

Title: Evaluation of *Curcuma longa* L. Supplementation on Functional, Inflammatory, and Morphological Changes of the Ileum in a Rheumatoid Arthritis Model.

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, systemic autoimmune disease characterized by inflammation of the joints. In the intestines, RA changes include ulcers, vasculitis, and intestinal wall atrophy. Alternatives to the traditional treatment of RA have been studied using turmeric (*Curcuma longa* L.), a plant native to India and commonly used in cooking, from which curcumin is extracted, also known to be anti-inflammatory and antimicrobial. This study aimed to analyze the effects of *Curcuma longa* L. supplementation on the histomorphological structure of the ileum in an experimental model of rheumatoid arthritis using Complete Freund's Adjuvant (CFA). Wistar rats, with an average age of 14 weeks and an average weight of 340 g, were randomly separated into groups (n=7/group): Control (CON), Turmeric (CM), Arthritis (A), and Turmeric Arthritis (ACM). Groups A and ACM were induced to RA by injecting CFA into the base of the tail and then into the capsule of the tibiofibular joint. After 24 hours, supplementation with *C. longa* dry extract was started by gavage for 15 consecutive days in the CM and ACM groups at 100 mg/kg/day. The animals in all groups underwent five functional evaluations to assess joint edema and disability, grip strength, and nociception. Euthanasia was carried out on the 24th day of the experiment. The ileum was collected, and its proximal segment was processed and stained with hematoxylin-eosin for histomorphometric analysis of villus height and width, crypt depth, total thickness of the intestinal wall and tunica muscularis, and quantification of intraepithelial lymphocytes. The distal segment of the ileum was fixed and subjected to Giemsa staining for quantification and morphometric analysis of the total population of myenteric neurons. A generalized mixed model test followed by Fisher's post-test (LDS) was carried out for all the parameters analyzed ($p < 0.05$). Body weight and perigonadal and retroperitoneal fat did not vary significantly between the groups. The induction of RA caused an increase in joint edema and paw elevation time, as well as reduced grip strength and nociception in groups A and ACM. In the ileum, the width of the villi was decreased in groups CM, A, and ACM. The other histomorphometric parameters and the quantification of intraepithelial lymphocytes were similar between the groups, as were the total density and area of the cell bodies of the myenteric neurons. The results showed that RA caused inflammation, compromising motor and nociceptive functions, which were not reversed by turmeric. Although no effects were detected in the total myenteric population, changes in the intestinal mucosa induced by RA and turmeric infer that intestinal homeostasis was influenced.

Keywords: Turmeric; Freund's adjuvant; autoimmune diseases; small intestine; myenteric plexus

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Eixo intestino-articulação na artrite reumatoide	20
Figura 2 – Esquema do trato gastrointestinal de humanos (A) e de ratos (B).	21
Figura 3 – Túnicas da parede intestinal.	22
Figura 4 – Organização dos plexos mioentérico e submucoso.	26
Figura 5 – Desenho esquemático da cronologia do experimento.	32
Figura 6 – Técnica de preparado total em solução de Giemsa.	34
Figura 7 – Avaliação do edema articular entre grupos Controle, Cúrcuma, Artrite e Artrite Cúrcuma.	37
Figura 8 – Avaliação da força de preensão entre os grupos Controle, Cúrcuma, Artrite e Artrite Cúrcuma.	38
Figura 9 - Avaliação do Teste de Incapacitação Articular entre os grupos Controle, Cúrcuma, Artrite e Artrite Cúrcuma.	39
Figura 10 - Avaliação da nocicepção entre os grupos Controle, Cúrcuma, Artrite e Artrite Cúrcuma.	40
Figura 11 – Fotomicrografias da parede intestinal dos grupos Controle (CON), Cúrcuma (CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma (ACM).	42
Figura 12 – Fotomicrografias de gânglios do plexo mioentérico dos grupos Controle (CON), Cúrcuma (CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma (ACM).	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros corporais e macroscópios grupos Controle (CON), 36
Cúrcuma (CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma (ACM).

Tabela 2 – Parâmetros morfométricos dos grupos Controle (CON), Cúrcuma 41
(CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma (ACM).

Tabela 3 – Área do corpo neuronal e densidade de neurônios mioentéricos no 43
íleo dos grupos Controle (CON), Cúrcuma (CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma
(ACM).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 Artrite reumatoide e o trato gastrointestinal	16
3.2 Intestino delgado, barreira intestinal e o sistema nervoso entérico	20
3.3 <i>Curcuma longa</i> no tratamento da artrite reumatoide	27
4 MÉTODO	30
4.1 Animais e grupos experimentais	30
4.2 Modelo experimental de artrite reumatoide	30
4.3 Protocolo de suplementação de <i>Curcuma longa</i> L.	31
4.4 Parâmetros corporais	31
4.5 Avaliações funcionais	31
4.5.1 Avaliação do edema articular	32
4.5.2 Teste de Incapacitação Articular	32
4.5.3 Força de preensão	32
4.5.4 Avaliação da nocicepção – Von Frey Digital	32
4.6 Eutanásia	33
4.7 Análises do intestino delgado	33
4.7.1 Coleta e processamento histológico	33
4.7.2 Histomorfometria da parede intestinal	34
4.7.3 Análise quantitativa dos linfócitos intraepiteliais	34
4.7.4 Detecção da população total de neurônios mientéricos (Técnica de Giemsa)	34
4.7.5 Análise morfoquantitativa dos neurônios mientéricos	35
4.8 Análise estatística	36
5 RESULTADOS	37
5.1 Parâmetros corporais e comprimento intestinal	37
5.2 Avaliações funcionais	38
5.2.1 Avaliação do edema articular	38

5.2.2 Força de preensão	39
5.2.3 Teste de Incapacitação Articular	39
5.2.4 Avaliação da nocicepção – Von Frey Digital	40
5.3 Histomorfometria da parede intestinal e densidade de linfócitos intraepiteliais	41
5.4 Análise morfoquantitativa dos neurônios mioentéricos.....	44
6 DISCUSSÃO	45
7 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS.....	52
ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	66

1 INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença crônica e sistêmica, caracterizada pela inflamação de articulações, mas que pode afetar outras regiões do corpo, como ossos, pulmões, olhos e coração. Atinge cerca de 1% da população mundial e tem maior prevalência em mulheres, principalmente por volta dos 50 anos de idade (SBR, 2021). Sua etiologia não é definida e depende de diversos fatores, porém, sabe-se que é uma doença autoimune e que possui origem em fatores genéticos e epigenéticos (Smolen *et al.*, 2007). Fatores ambientais, como o tabagismo (Sugiyama *et al.*, 2010; Di Giuseppe *et al.*, 2014), a doença periodontal (Calderaro *et al.*, 2017) e o baixo nível socioeconômico (Millar *et al.*, 2013), estão relacionados ao risco de desenvolver AR.

A AR desenvolve-se de forma insidiosa (Gomes *et al.*, 2013), tipicamente intermitente, marcada por períodos variáveis de remissão e exacerbação, mas conservando um caráter progressivo de lesão tecidual (Mota; Laurindo; Santos Neto, 2010). Além das manifestações articulares, pode envolver e comprometer diversos órgãos e sistemas (Marcucci *et al.*, 2018). No trato gastrointestinal, as manifestações são comuns e variadas, incluindo alterações na articulação temporomandibular, que impede a mastigação, diminuição do peristaltismo distal do esôfago e do tônus do esfíncter esofágico inferior, úlcera péptica, pancreatite, apendicite, inflamação do colo, diarreia e vasculite (Cojocar *et al.*, 2011). Em modelo experimental de AR, também são observadas neurodegeneração entérica, com diminuição da densidade de neurônios entéricos (Bossolani *et al.*, 2019) e das células gliais, além de alterações estruturais e inflamatórias na mucosa intestinal, por meio de atrofia e do aumento de linfócitos B e totais (Bossolani *et al.*, 2019).

Há a hipótese de que a AR comece a se desenvolver em um ou mais locais de mucosas, como nos intestinos; em seguida, pode envolver as articulações sinoviais (Holers *et al.*, 2018; Clarke, 2020). Em suporte a essa hipótese, detectou-se que camundongos e humanos apresentam disfunção da barreira da mucosa intestinal antes do início clínico da artrite (Tajik *et al.*, 2020). As alterações detectadas na barreira intestinal antes ou no início da doença incluem redução na expressão de proteínas de junções oclusivas no epitélio intestinal (Flak *et al.*, 2019; Tajik *et al.*, 2020; Matei *et al.*, 2021), diminuição no número de células caliciformes produtoras de muco

(Tajik *et al.*, 2020; Matei *et al.*, 2021), aumento de células T na mucosa (Tajik *et al.*, 2020), perda de células anti-inflamatórias, que expressam interleucina-10 (IL-10) (Matei *et al.*, 2021), e alterações na microbiota intestinal (Horta-Baas *et al.*, 2017; Jubair *et al.*, 2018; Matei *et al.*, 2021).

Com a ruptura da função da barreira, há aumento da permeabilidade intestinal e translocação de microrganismos patogênicos ou de seus componentes, como o lipopolissacarídeo, um componente da membrana de bactérias gram-negativas e cujos níveis séricos se mostraram aumentados em pacientes com AR (Matei *et al.*, 2021). Essas condições induzem infiltração de células imunes na mucosa e inflamação intestinal, como também migração sistêmica de células imunes e inflamação das articulações (Jubair *et al.*, 2018; Flak *et al.*, 2019; Tajik *et al.*, 2020; Matei *et al.*, 2021).

A AR afeta a qualidade de vida dos indivíduos, podendo ocasionar a limitação funcional e perda da capacidade laboral (Verstappen *et al.*, 2005), como também atingir as interações sociais, o grau de independência e as crenças pessoais (Ribeiro *et al.*, 2021; Ribeiro *et al.*, 2022). Desse modo, o acompanhamento médico e a realização de exames devem ser iniciados com o aparecimento dos sintomas e continuados durante todo o tratamento (Brasil, 2020). Assim, avaliações da capacidade funcional dos pacientes permitem a prescrição adequada de treinamento físico e reabilitação, visando ao desenvolvimento de resistência e de capacidade física, para atingir melhora da qualidade de vida (Santana *et al.*, 2014). No entanto, é observado que pacientes de níveis socioeconômicos mais baixos estão relacionados à maior duração da doença, incapacidade para o trabalho e maiores custos indiretos associados à AR (Azevedo; Ferraz; Ciconelli, 2008). Além disso, pode ocorrer a não adesão ao tratamento, que também está relacionada com fatores demográficos e socioeconômicos. Nesse processo, a autopercepção de saúde, as características da doença e o regime terapêutico também são importantes (Batistella, 2021).

O tratamento medicamentoso da AR inclui o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), glicocorticoides, imunossupressores e medicamentos modificadores do curso da doença, administrados isolados ou em conjunto (Brasil, 2020). No entanto, existem efeitos adversos entre a maioria dos medicamentos, como indigestão, reações alérgicas (NHS, 2019), anemia (NHS, 2019; Brasil, 2020),

leucopenia, disfunção renal e hepática (Brasil, 2020). No trato gastrointestinal, os AINEs causam gastropatia (Sinha *et al.*, 2013) e enteropatia (Tachecí *et al.*, 2016; Svistunov *et al.*, 2018); em seu uso a longo prazo, são descritas lesões intestinais, incluindo inflamação, ulceração, erosão (Maiden *et al.*, 2007; Lanas; Sopeña, 2009; Tachecí *et al.*, 2016) e aumento da permeabilidade da mucosa (Lanas; Sopeña, 2009).

Como uma alternativa ao tratamento medicamentoso, o tumérico (*Curcuma longa* L.), ou cúrcuma, está sendo estudado (Kotha; Luthria, 2019). A cúrcuma é originária da Índia e comumente utilizada na culinária e cosméticos (Kotha; Luthria, 2019), mas, também, é conhecida por ser anti-inflamatória e antimicrobiana, além de apresentar efeitos positivos em doenças dermatológicas, hepáticas e respiratórias (Kotha; Luthria, 2019; Verma *et al.*, 2018; El-Hack *et al.*, 2021). A ação anti-inflamatória da cúrcuma ocorre por meio da regulação negativa de citocinas pró-inflamatórias (Ahmad *et al.*, 2020), mostrando-se eficaz em tratar a inflamação articular causada pela AR em modelos experimentais (Wang *et al.*, 2019; Al-Mousawi; Al-Hamed; Ali, 2020). Em roedores, a administração oral de 200 mg/kg/dia de cúrcuma apresentou efeito anti-inflamatório no intestino com motilidade intestinal prejudicada (Aldini *et al.*, 2012), enquanto a administração de 20 mg/kg via intraperitoneal reduziu os danos intestinais causados por medicamentos (Sivalingam *et al.*, 2007). No entanto, a baixa biodisponibilidade da curcumina está relacionada à má absorção intestinal, ao extenso metabolismo redutor e conjugativo no fígado e rápida eliminação sistêmica, o que limita seus efeitos clínicos (Cas; Ghidoni, 2019; Memarzia *et al.*, 2021). Estratégias, a exemplo do uso da curcumina, combinada a outros compostos e diferentes formas de administração, estão sendo estudadas a fim de aumentar sua solubilidade, prolongar a residência no plasma, além de melhorar o perfil farmacocinético e a absorção celular (Cas; Ghidoni, 2019).

Efeitos adversos foram observados após administração via intraperitoneal de 28 mg/kg/dia de óleo essencial de cúrcuma em ratas Lewis, sendo associada a peritonite, sangramento gastrointestinal com anemia e dano hepatocelular, enquanto, em concentração mais baixa, de 2,8 mg/kg/dia, não apresentou toxicidade aguda ou mortalidade (Funk *et al.*, 2010). Em estudos clínicos com administração oral diária em cápsulas de 2 g (Hanai *et al.*, 2006) e 750 mg (Chuengsamarn *et al.*, 2012; Chuengsamarn *et al.*, 2014) de curcumina, um dos compostos curcuminoides

presentes na cúrcuma (Kotha; Luthria, 2019; El-Hack et al., 2021), foram relatados flatulência (Hanai et al., 2006), constipação (Chuengsamarn et al., 2012; Chuengsamarn et al., 2014) e náusea (Chuengsamarn et al., 2014).

Diante do fato de que a AR prejudica a barreira intestinal desde a fase inicial da doença (Zaiss et al., 2021) e pode influenciar os parâmetros corporais, funcionais, a estrutura e inervação intrínseca intestinal, além de que o tratamento medicamentoso da doença apresenta diversos efeitos colaterais ao trato gastrointestinal, torna-se necessário investigar intervenções que possam minimizar tais efeitos e que sejam mais eficazes, como a fitoterapia tradicional indiana, a fim de compreender o papel do intestino delgado no contexto da AR. Dessa forma, o estudo analisou os efeitos da suplementação de *C. longa* na morfologia intestinal e inervação intrínseca do íleo, bem como avaliou parâmetros funcionais e inflamatórios em modelo experimental de AR. Buscou-se, portanto, elucidar se os efeitos anti-inflamatórios da cúrcuma melhoram os aspectos funcionais, inflamatórios e possíveis danos intestinais causados pela AR em ratos *Wistar*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar os efeitos da suplementação com *C. longa* na morfologia da parede intestinal e em neurônios mioentéricos do íleo, bem como em parâmetros funcionais e inflamatórios do membro pélvico em modelo experimental de AR.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar parâmetros corporais relacionados ao peso corporal, comprimento nasoanal, índice de Lee e peso das gorduras retroperitoneal e perigonadal;
- Avaliar os aspectos inflamatórios em relação ao edema articular e linfócitos intraepiteliais do íleo;
- Avaliar os parâmetros funcionais em relação à força de preensão, propriocepção e nocicepção;
- Avaliar parâmetros histomorfométricos da parede intestinal e aspectos morfoquantitativos da população total de neurônios mioentéricos do íleo.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Artrite reumatoide e o trato gastrointestinal

A AR é caracterizada pela inflamação do tecido sinovial de articulações, cartilagens e ossos; é uma doença poliartrite, que envolve várias articulações, além de sítios extra-articulares (Smolen; Steiner, 2003; Scherer; Häupl; Burmester, 2020), como o coração, os pulmões, rins, olhos e o trato gastrointestinal (Marcucci *et al.*, 2018).

Estima-se que a AR ocorra em cerca de 0,2 a 1,2% da população mundial e alcance até 2% da população brasileira; no entanto, os números variam em diferentes regiões e a prevalência é maior em mulheres (Carmona *et al.*, 2010). Essa variação regional pode existir por um conjunto de fatores, como a diferença de sexo e idade entre a população, assim como exposições ambientais, clima, diagnóstico de AR e fatores genéticos (Carmona *et al.*, 2010). Mais de 100 *loci* estão associados ao risco de AR, contudo, o genótipo HLA-DRB possui maior influência e está presente na maioria dos pacientes, sendo relacionado à gravidade da doença, envolvimento de outros órgãos e destruição articular (Smolen *et al.*, 2007; Smolen; Aletaha; McInnes, 2016). No entanto, a AR é considerada uma doença multifatorial e sua patogênese não está completamente definida; assim, sabe-se da influência de comportamentos ambientais, como tabagismo (Di Giuseppe *et al.*, 2014; Sugiyama *et al.*, 2010), doença periodontal (Calderaro *et al.*, 2017) e fatores genéticos, com o envolvimento de múltiplos genes (Carmona *et al.*, 2010; Choy, 2012).

O sistema imune parece iniciar os estágios de AR, desencadeado por agentes infecciosos (Smolen; Steiner, 2003), em que ocorre interação dos sistemas imunológico e inflamatório, com o envolvimento de moduladores imunológicos (citocinas e células efectoras), que são responsáveis pelas alterações articulares na membrana sinovial. Como doença autoimune, a AR está associada a diferentes autoanticorpos, principalmente ao fator reumatoide, que podem ser responsáveis por iniciar a cascata de ativação de células T e as demais alterações inflamatórias (Smolen; Steiner, 2003).

Visto que uma das consequências da inflamação aguda e da lesão crônica é a função física (Bombardier *et al.*, 2011), a avaliação da funcionalidade permite identificar pacientes com risco de incapacitação funcional, a fim de motivá-los a aderir ao tratamento recomendado (Santana *et al.*, 2014). A incapacidade funcional está correlacionada com o dano articular ao longo da duração da AR; assim, as implicações da doença nas articulações, ossos e cartilagens, além dos efeitos dos seus tratamentos, podem ser avaliados por resultados radiográficos e funcionais (Bombardier *et al.*, 2011).

Para melhor compreender a AR, os modelos animais experimentais são utilizados devido à facilidade de manuseio e homogeneidade genética (Choudhary; Bhatt; Prabhavalkar, 2018). Nos animais, a AR pode ser induzida por adjuvantes, que geram modelo de poliartrite robusta e facilmente mensurável, com reabsorção óssea acentuada, proliferação óssea periosteal e destruição de cartilagem leve, sendo possível analisar alterações patológicas em diferentes tecidos, além das articulações (Bendele, 2001). Um modelo de indução de AR é o Adjuvante Completo de Freund (CFA), formado por uma mistura de óleos minerais, micobactérias mortas e agente emulsificante (Choudhary; Bhatt; Prabhavalkar, 2018). É considerado um potenciador das respostas imunes, causando a formação de focos de inflamação (Choudhary; Bhatt; Prabhavalkar, 2018), por meio de injeção intradérmica na base da cauda ou intra-articular, sendo adequado para simular a AR humana (Gomes *et al.*, 2013; Noh *et al.*, 2021).

O CFA é um modelo de rápida progressão para inflamação poliarticular, apresentando os sintomas da AR de 10 a 14 dias após a indução: inchaço das articulações, infiltração de linfócitos e degradação da cartilagem, que são comuns também na AR humana (Choudhary; Bhatt; Prabhavalkar, 2018). Em ratos *Wistar*, o CFA é eficiente em induzir a AR, gera rápido desenvolvimento de resposta inflamatória (Snehalatha *et al.*, 2012; González-Chávez *et al.*, 2023), com inchaço da pata afetada, formação de pannus, erosão da cartilagem, inflamação e hiperplasia na articulação afetada (Snehalatha *et al.*, 2012), perda de peso corporal, dificuldade de locomoção, complicações nociceptivas e inflamatórias (Noh *et al.*, 2021).

O modelo artrítico também induz efeitos extra-articulares, incluindo alterações na inervação intrínseca do trato gastrointestinal e nos constituintes celulares da

mucosa, com possíveis repercussões funcionais que poderiam predispor a sintomas gastrointestinais observados em pacientes com AR (Bossolani *et al.*, 2019), além da reação adversa ao tratamento que também é sugerida (Kröner *et al.*, 2019). As manifestações da AR incluem alterações na articulação temporomandibular, que podem causar dor e dificultar a mastigação, diminuição do peristaltismo do esôfago e do tônus do esfíncter esofágico inferior, pirose e esofagite, úlcera péptica, pancreatite, apendicite, vasculite, inflamação do colo e diarreia (Cojocar *et al.*, 2011; Kröner *et al.*, 2019). Possivelmente, por mecanismos patogênicos sobrepostos, a ocorrência de doença de Crohn e colite ulcerosa são frequentes em pacientes com AR (Halling *et al.*, 2017).

As investigações para avaliar como a AR afeta os componentes da inervação entérica e da parede intestinal e como se relaciona aos sintomas gastrointestinais dos pacientes com AR ainda são escassas, mas pesquisas mostraram que, no intestino delgado de ratos, a doença provoca neurodegeneração, com diminuição da densidade de neurônios entéricos e de células gliais nos plexos submucoso e mioentérico (Bossolani *et al.*, 2019). Embora também se relate que ratos artríticos não apresentam danos morfoquantitativos em neurônios do plexo mioentérico (Souza *et al.*, 2011), o que sugere que esse modelo não está totalmente esclarecido, as alterações descritas nos neurônios entéricos poderiam influenciar o controle nervoso local e afetar o funcionamento do trato gastrointestinal, incluindo a motilidade, secreção, crescimento da mucosa e o fluxo sanguíneo no trato gastrointestinal, o que compromete a qualidade de vida e aspectos de saúde (Collins, 1996; Niesler *et al.*, 2021).

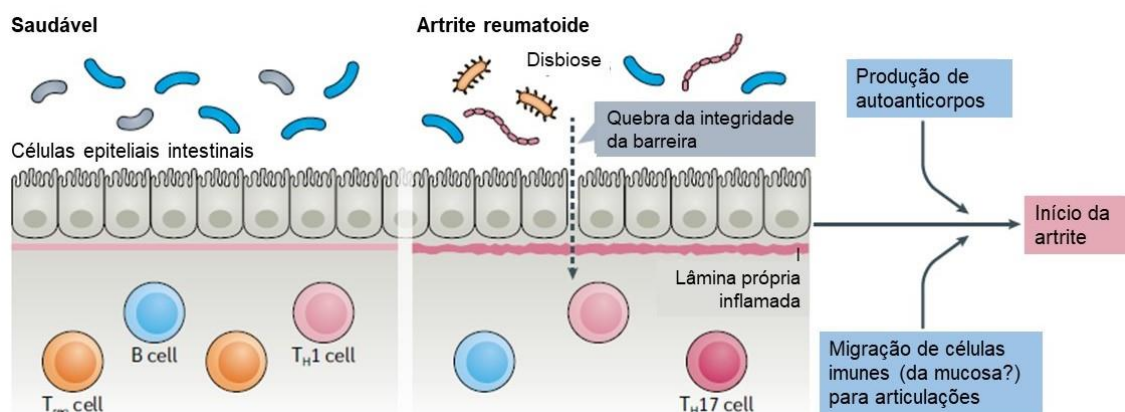
O intestino também pode sofrer atrofia após a AR, com redução da altura dos vilos, da espessura total da parede (Bossolani *et al.*, 2019) e da área intestinal em modelos experimentais (Bossolani *et al.*, 2019; Zanon *et al.*, 2019). Tais mudanças poderiam alterar a área de contato com o lúmen intestinal, influenciando a capacidade de absorção de nutrientes (Bossolani *et al.*, 2019; Soares *et al.*, 2015) e a superfície epitelial exposta aos microrganismos patogênicos e comensais (Steegenga *et al.*, 2012; Belém *et al.*, 2015). No nível celular, poderiam refletir uma diminuição da proliferação celular ou aumento da apoptose (Shaw; Gohil; Basson, 2012), o que sugere que a AR pode alterar o estado de autorrenovação do epitélio intestinal. Esse

é um processo constante e envolve a proliferação, diferenciação, migração e sobrevivência das células epiteliais (Guzman; Conlin; Jobin, 2013).

Fatores que controlam o processo de renovação do epitélio (Guzman; Conlin; Jobin, 2013) e que alteram a sua integridade são implicados com ruptura da barreira epitelial (Zaiss *et al.*, 2021) e desequilíbrio da microbiota, denominado disbiose (Matei *et al.*, 2020). A ruptura da barreira epitelial é caracterizada pelo aumento da permeabilidade e invasão de microrganismos na mucosa, o que pode resultar em uma resposta imune exacerbada e patológica, resultando em inflamação intestinal (Zaiss *et al.*, 2021). Estudos sugerem que a disbiose (Holers *et al.*, 2018; Clarke, 2020; Zaiss *et al.*, 2021) e a barreira intestinal (Tajik *et al.*, 2020) tenham um papel no desenvolvimento da AR, que seria iniciada em locais de mucosa, como gengivas, pulmões e intestinos, e transitaria para as articulações sinoviais (Holers *et al.*, 2018; Clarke, 2020; Zaiss *et al.*, 2021). Na espondiloartrite, foi demonstrado que a disbiose intestinal pode contribuir para o início da inflamação intestinal, por meio da expansão de células imunes intestinais com potencial de atingir sítios extraintestinais, o que sugere que mecanismos semelhantes aconteçam na AR (Ciccia *et al.*, 2015; Zaiss *et al.*, 2021). Em camundongos, a migração de células T do intestino delgado para órgãos linfoides secundários e tecidos sinoviais foi observada durante o início da artrite (Tajik *et al.*, 2020).

Em pacientes no estágio inicial da AR, são observados sinais de inflamação intestinal, como aumento do número de células T, células B, macrófagos, células mononucleares infiltrantes e presença de folículos linfoides, sugerindo um processo inflamatório crônico no intestino (Figura 1) (Zaiss *et al.*, 2021). Similarmente, inflamação e alterações na barreira intestinal são encontradas antes ou no início do desenvolvimento da artrite, em modelos animais e em humanos (Tajik *et al.*, 2020), com menor expressão de proteínas de junções intercelulares epiteliais, diminuição no número de células caliciformes produtoras de muco (Tajik *et al.*, 2020; Matei *et al.*, 2021), aumento na frequência de subconjuntos de células T na mucosa (Tajik *et al.*, 2020) e perda de células anti-inflamatórias que expressam IL-10 (Matei *et al.*, 2021).

Figura 1 – Eixo intestino-articulação na artrite reumatoide. No tecido intestinal saudável, as células epiteliais intestinais formam uma barreira, mediada por uma camada de muco e por junções oclusivas entre as células, o que limita a translocação de microrganismos e seus produtos. A disbiose microbiana e a inflamação da lâmina própria podem ser detectadas em indivíduos com risco de AR antes que ocorram os primeiros sinais clínicos de artrite, causando uma violação na integridade da barreira intestinal. A translocação de produtos microbianos tem o potencial de desencadear artrite clínica por meio de uma série de mecanismos possíveis.

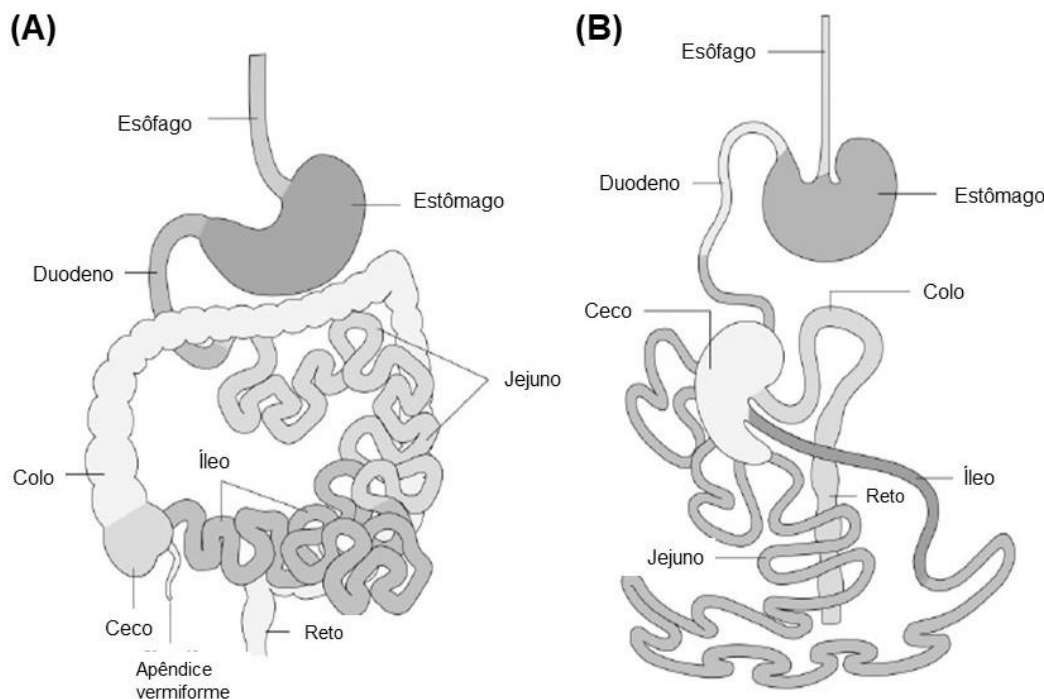


Fonte: Traduzido de Zaiss *et al.* (2021).

3.2 Intestino delgado, barreira intestinal e sistema nervoso entérico

O intestino delgado é o principal órgão responsável pela digestão e absorção de nutrientes, água e eletrólitos (DeSesso; Jacobson, 2001), de maneira que desempenha um papel fundamental como barreira à entrada de microrganismos. Dessa forma, consiste em um tubo oco de seis a sete metros de comprimento em humanos (Volk; Lacy, 2017; Mahadevan, 2020), dividido em três segmentos: duodeno, jejuno e íleo (DeSesso; Jacobson, 2001). A mesma organização é observada em ratos, mas com tamanho aproximado de 125 centímetros e com o jejuno compondo quase toda a extensão do órgão (Figura 2) (DeSesso; Jacobson, 2001).

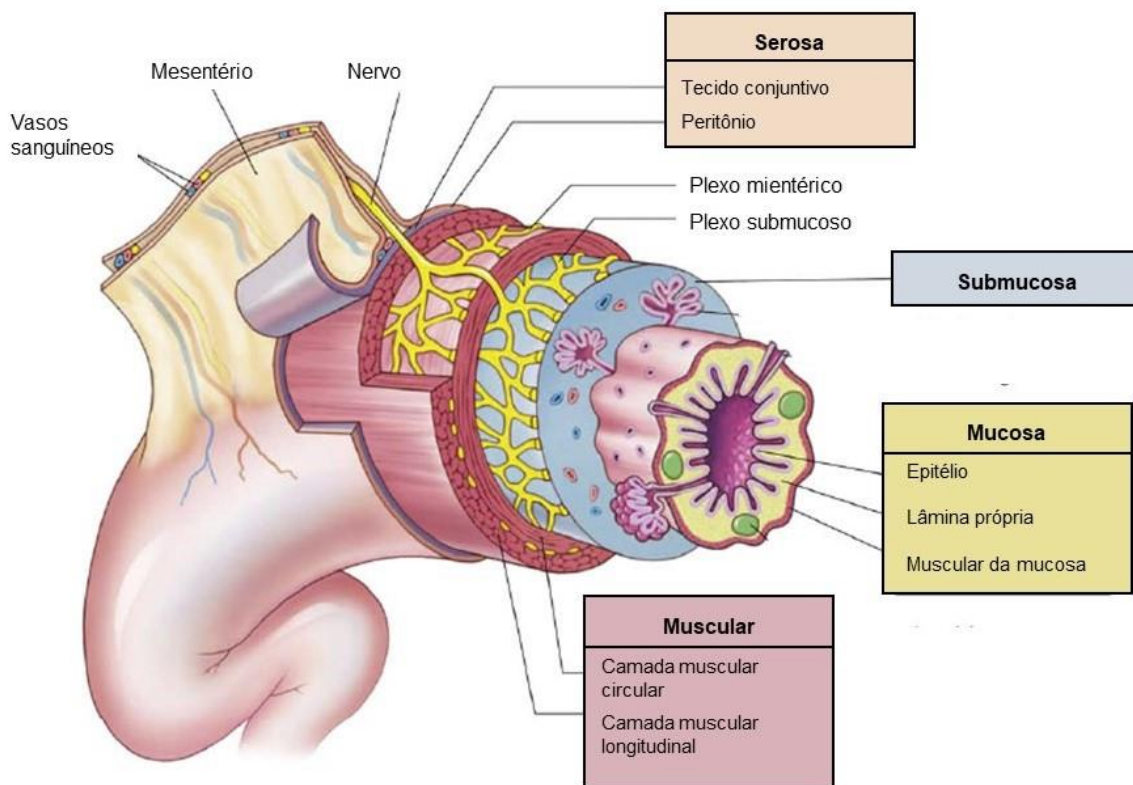
Figura 2 – Esquema do trato gastrointestinal de humanos (A) e de ratos (B). O trato gastrointestinal de ratos (B) possui a mesma organização do de humanos (A), porém, o esôfago entra no estômago em uma porção central e a entrada no duodeno está voltada cranialmente. No rato, o jejuno compõe quase todo o intestino delgado; o ceco é extremamente grande e não possui apêndice vermiforme.



Fonte: Traduzido de DeSesso, Jacobson (2001).

A parede intestinal é composta por quatro camadas principais ou tûnicas (Figura 3). Em contato com o lúmen intestinal, há a tûnica mucosa, que é composta pelo epitélio, por uma lâmina própria de tecido conjuntivo ricamente vascularizado, bem como por células imunes inatas e adaptativas, além da muscular da mucosa (Desesso; Jacobson, 2001; Volk; Lacy, 2017). A tûnica submucosa é formada por tecido conjuntivo denso irregular composto por fibroblastos e mastócitos, com vasos sanguíneos e linfáticos; ademais, há um plexo submucoso ao longo de todo o seu comprimento e, no duodeno, estão células especializadas secretoras de muco e bicarbonato (Reed; Wickham, 2009; Volk; Lacy, 2017). A camada muscular possui duas camadas de músculo liso, uma camada circular interna e uma camada longitudinal externa; entre elas, está o plexo mioentérico. A serosa é a camada mais externa e consiste em tecido conjuntivo, além de revestimento de células mesoteliais (Reed; Wickham, 2009; Volk; Lacy, 2017).

Figura 3 – Túnicas da parede intestinal. As quatro camadas concêntricas distintas da parede intestinal: mucosa, em contato com o lúmen e composta pelo epitélio, lâmina própria e muscular da mucosa; a submucosa, formada por tecido conjuntivo, com vasos sanguíneos e linfáticos e um plexo submucoso; a muscular, formada por uma camada circular interna e uma longitudinal externa; entre elas, está o plexo mioentérico; e a serosa, mais externa, consiste em tecido conjuntivo e é contínua com uma prega de membrana serosa chamada mesentério.



Fonte: Traduzido de Reed; Wickham (2009).

A mucosa do intestino delgado é caracterizada pela presença de vilos, ou vilosidades, que são projeções do epitélio e da lâmina própria em formato digitiforme (Kiela; Ghishan, 2016), e criptas; assim, ambos formam um eixo no qual estão organizadas as células epiteliais que revestem o lúmen (Volk; Lacy, 2017). Na base das criptas, estão localizadas as células-tronco intestinais que se diferenciam das demais células que compõem o epitélio. A taxa de renovação da população epitelial é de quatro a sete dias (Reed; Wickham, 2009); após a diferenciação na cripta, as células migram por meio do eixo até a porção apical do vilo, onde completam seus ciclos de vida (Gelberg, 2014; Volk; Lacy, 2017).

O epitélio é composto por uma camada simples de células epiteliais especializadas em secretar muco, enzimas e demais substâncias bioquímicas protetivas da mucosa ou que auxiliam a digestão (Reed; Wickham, 2009). As células epiteliais são unidas entre si por junções intercelulares, formadas por junções

aderentes, zônulas de oclusão e desmossomos, formando uma barreira física de camada mononuclear (Portincasa *et al.*, 2022), responsáveis por selar o espaço intercelular, regular a permeabilidade paracelular e conferir resistência mecânica à barreira epitelial intestinal (Neunlist *et al.*, 2012).

Os enterócitos são células colunares absorptivas e predominantes no epitélio intestinal; possuem microvilos em suas faces luminais que aumentam a área de superfície de absorção (DeSesso; Jacobson, 2001; Volk; Lacy, 2017). Distribuídas entre os enterócitos, estão as células caliciformes, em frequência que aumenta progressivamente em direção ao íleo, tornando-se abundantes no intestino grosso (Kim; Ho, 2010). Essas células apresentam um formato clássico de cálice, devido ao citoplasma apical alargado pela agregação de moléculas de água às mucinas hidrofílicas contidas nos grânulos de secreção (Kim; Ho, 2010; Kim; Khan, 2013).

Como parte da linhagem secretora do epitélio intestinal (Crosnier; Stamatakis; Lewis, 2006), as células caliciformes são responsáveis pela síntese e secreção de mucinas, glicoproteínas de alto peso molecular que constituem o principal componente do muco intestinal. O muco forma uma espessa manta sobre a superfície do epitélio, promovendo uma barreira física e química que protege o epitélio de bactérias entéricas e irritantes endógenos e exógenos (Specian; Oliver, 1991; Kim; Khan, 2013). Composta por dois estratos distintos, a camada externa de muco está em contato com as bactérias; já a camada interna, é resistente à penetração bacteriana, definindo uma zona protegida relativamente estéril, adjacente à superfície epitelial (Hooper, 2009). Além de mucinas, as células caliciformes secretam peptídeos trefoil, moléculas β tipo resistina (RELM β) e proteínas de ligação Fc- γ , que também são componentes do muco (Kym; Ho, 2010) e atuam no combate a antígenos luminais (Bergstrom *et al.*, 2008). Apesar de não estarem esclarecidos os mecanismos que regulam a biologia das células caliciformes e da produção de mucina, sabe-se que alterações nessas células podem comprometer a barreira intestinal (Matei *et al.*, 2021).

A barreira intestinal é um complexo mecanismo morfológico-funcional, formada por diferentes componentes integrados, como a microbiota e muco intestinal, as células epiteliais e as junções oclusivas, a interface intestino-vascular, o filtro hepático e a motilidade gastrointestinal (Portincasa *et al.*, 2022). Também, é integrada pela

barreira imunológica, composta por células imunocompetentes, como as células de Paneth, células dendríticas, fagócitos, peptídeos antimicrobianos e os linfócitos T e B. Seu funcionamento depende da interação entre as barreiras epitelial, imune e do muco, além de nutrientes, microbiota, motilidade e secreção gastrointestinal (Portincasa *et al.*, 2022).

Os linfócitos T são particularmente abundantes no intestino; estima-se que há mais células T no epitélio intestinal do que no baço (Cheroutre; Lambolez; Mucida, 2011). Encontram-se presentes em estruturas linfoides organizadas, como as placas de Peyer e os linfonodos mesentéricos, como também dispersos no interior da lâmina própria ou entre as células epiteliais, que recebem a denominação de linfócitos intraepiteliais (IELs) (Cheroutre, 2004). Os IELs distribuem-se em todo o intestino delgado e intestino grosso, formando a primeira defesa imunológica contra a entrada e disseminação de patógenos; são extremamente heterogêneos e quase exclusivamente células T (Cheroutre; Lambolez; Mucida, 2011). Os IELs possuem um importante papel na regulação imune por meio da produção de citocinas, modulando funções celulares biológicas que desencadeiam vias de sinalização e medeiam a homeostase da barreira epitelial (Cheroutre; Lambolez; Mucida, 2011; Qiu; Yang, 2013). Além das funções homeostáticas, os IELs podem contribuir para patologias imunológicas e doenças inflamatórias: interferon- γ (IFN- γ), fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina (IL-) 2; têm o potencial de iniciar ou propagar inflamação intestinal ou levar a uma resposta imune exacerbante; enquanto IL-4, IL-10 e fator transformador de crescimento (TGF- β), são citocinas reguladoras e previnem respostas inflamatórias excessivas que podem comprometer a integridade da barreira intestinal (Qiu; Yang, 2013).

A densidade de IELs pode ser influenciada por diferentes fatores: o aumento de IELs ocorre em uma variedade de enteropatias com atrofia dos vilos, como também é independente de alterações estruturais na parede intestinal (Kakar *et al.*, 2003); ademais, é associado aos distúrbios autoimunes, ingestão de AINEs, colite linfocítica e à AR (Ferguson; Murray, 1971; Kakar *et al.*, 2003; Aziz *et al.*, 2010). Além disso, alterações na microbiota intestinal também podem ocasionar alterações funcionais nos IELs, influenciando a secreção de citocinas; ademais, pode afetar a homeostase

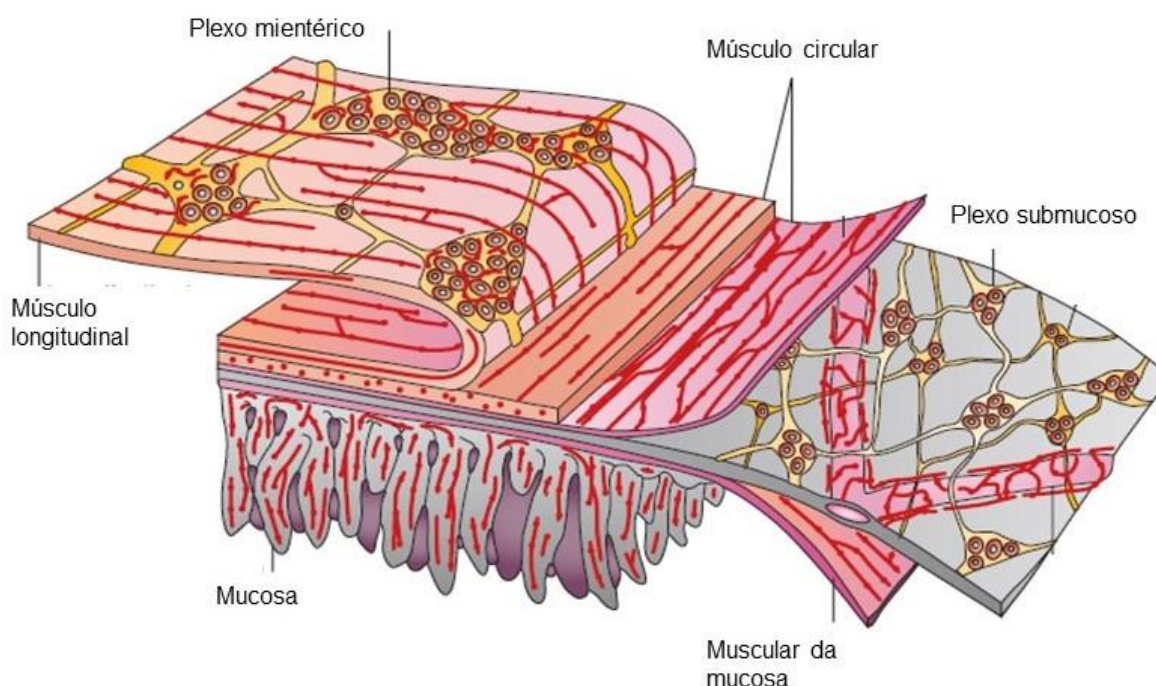
epitelial e influenciar a função da barreira epitelial (Kuhn *et al.*, 2018; Regner *et al.*, 2018).

A barreira epitelial intestinal também é influenciada pelo sistema nervoso entérico (SNE), um extenso sistema nervoso intrínseco (Jacobson *et al.*, 2021). Contido na parede do trato gastrointestinal, do esôfago ao reto, no pâncreas e na vesícula biliar, o SNE pode controlar funções do intestino independentemente do sistema nervoso central (SNC), porém, atua de forma integrada com o SNC e com outras vias neuroendócrinas (Furness, 2012). Dessa maneira, forma circuitos reflexos que medeiam os padrões de movimento do intestino delgado, incluindo peristaltismo, segmentação e propulsão, além da fisiologia intestinal, do fluxo sanguíneo local e do movimento transmucoso de fluidos (Furness, 2006; Furness, 2012).

O SNE é composto por células gliais e células nervosas agrupadas em gânglios entéricos, interligados por fibras nervosas, além de fibras nervosas que suprem os tecidos efetores (Furness, 2006; Furness, 2012). O número total de neurônios entéricos em humanos é de 400 a 600 milhões, superando o número total de gânglios simpáticos e parassimpáticos, semelhante ao número de neurônios na medula espinal (Furness, 2012). Há perda de neurônios entéricos na idade avançada (Furness, 2006), além de variação conforme a idade e o segmento intestinal; em ratos *Wistar* com cerca de 7 meses de idade, estima-se em torno de 300 neurônios entéricos por mm² no duodeno (Marese; Freitas; Natali, 2007) e 600/mm² no íleo (Miranda-Neto *et al.*, 2001); em animais com cerca de 3 meses de idade, foram encontrados 400/mm² no duodeno (Marese; Freitas; Natali, 2007).

No intestino delgado, células gliais e neurônios entéricos (neurônios aferentes primários intrínsecos – IPANs, interneurônios e neurônios motores excitatórios e inibitórios) formam redes interconectadas denominadas plexos, com dois maiores plexos ganglionados, o plexo mioentérico e o plexo submucoso (Furness, 2006; Furness, 2012). O plexo submucoso localiza-se na túnica submucosa e controla atividades de secreção, de absorção e o fluxo sanguíneo; já o plexo mioentérico, está posicionado entre as camadas musculares circular interna e longitudinal externa da túnica muscular, de maneira que atua na motilidade do trato gastrointestinal, regulando a contratilidade dos músculos circulares e longitudinais (Furness, 2006; Sharkey; Mawe, 2023) (Figura 4).

Figura 4 – Organização dos plexos mioentérico e submucoso. O plexo mioentérico está posicionado entre as camadas longitudinal e circular da túnica muscular; o plexo submucoso está posicionado na túnica submucosa. Feixes de fibras nervosas conectam os gânglios e também formam plexos que inervam o músculo longitudinal, o músculo circular, a muscular da mucosa, as artérias intrínsecas e a mucosa.



Fonte: Traduzido e adaptado de Furness (2012).

A proximidade entre neurônios entéricos, células gliais entéricas e células epiteliais intestinais pode ser considerada como uma unidade neuronal-glial-epitelial e estabelece a base anatômica para a comunicação parácrina entre as células (Neunlist *et al.*, 2012), fornecendo às células imunológicas e aos processos neuronais na mucosa acesso a diversos sinais luminiais (Yoo; Mazmanian, 2017). Dessa forma, a liberação de neuromediadores entéricos pode exercer diferentes efeitos nas funções da barreira epitelial, como aumento ou diminuição da permeabilidade celular e indução da secreção de mucina (Neunlist *et al.*, 2012; Yoo; Mazmanian, 2017). A proliferação de células epiteliais também é sugerida ser regulada por neurônios entéricos, por meio do plexo submucoso, possivelmente, por fatores de crescimento secretados por células submucosas (Toumi *et al.*, 2003). Por outro lado, a relação dos neurônios entéricos com as células imunes é evidenciada após processo inflamatório, em que a função neuromuscular e a excitabilidade dos neurônios entéricos podem sofrer

alterações a longo prazo, incluindo aumento de IELs, aumento do número de linfócitos da mucosa e do número de mastócitos (Chadwick *et al.*, 2002), por meio da invasão dos ganglios mioentéricos por mastócitos e linfócitos (Rühl; Berezin; Collins, 1995, Vallance *et al.*, 1999, Sayani *et al.*, 2004; Furness, 2006). A interação entre os diferentes tipos celulares, seus mediadores e os neurônios entéricos contribui para mudanças estruturais e funcionais que podem ocasionar a neuroplasticidade subjacente à disfunção gastrointestinal (Vasina *et al.*, 2006). Visto que o SNE, a microbiota e o sistema imunológico possuem papéis importantes na manutenção da homeostase e da integridade da barreira intestinal, é necessário explorar as disfunções da unidade neuronal-gliial-epitelial na fisiopatologia de doenças digestivas e extradigestivas (Neunlist *et al.*, 2012), como a AR.

3.3 *Curcuma longa* no tratamento da artrite reumatoide

O tumérico (*Curcuma longa* L.) (Zingiberaceae), também conhecido como cúrcuma ou açafrão-da-terra, foi originado na Índia e, devido à sua cor e sabor, é tradicionalmente utilizado na preparação de comidas, como o curry e a mostarda (Kotha; Luthria, 2019). A cúrcuma é composta em sua maior parte por carboidratos, mas apresenta porcentagens de proteína, óleos essenciais, gordura, minerais, vitaminas e os curcuminoides, responsáveis pela principal atividade biológica da cúrcuma devido à sua estrutura fenólica: curcumina, bisdemetóxicurcumina e demetóxicurcumina (Kotha; Luthria, 2019; El-Hack *et al.*, 2021). Por ser uma planta estéril, não produz sementes e é o rizoma, seu caule subterrâneo, que é desidratado e moído para extração dos curcuminoides (Verma *et al.*, 2018; Kotha; Luthria, 2019).

Uma das limitações para o uso da cúrcuma como potencial agente terapêutico é sua baixa biodisponibilidade, baixa estabilidade em condições fisiológicas, meia-vida curta e metabolismo rápido (Anand *et al.*, 2007; Tsuda, 2018). Dessa forma, são estudadas diferentes maneiras de administração: a biodisponibilidade da curcumina pode ser aumentada encapsulando-a em fase lipídica e por nanopartículas (Anand *et al.*, 2007; Kocaadam; Sanlier, 2017; Memarzia *et al.*, 2021); assim, a promoção das suas atividades biológicas poderia ser facilitada (Anand *et al.*, 2007; Tsuda, 2018); no entanto, principalmente no cenário clínico, não está esclarecido se o aumento da

biodisponibilidade de curcumina é diretamente proporcional ao aumento dos efeitos terapêuticos (Memarzia *et al.*, 2021).

Como anti-inflamatória, a curcumina é capaz de modular o sistema imune e atua por meio da regulação negativa de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , interleucinas (IL-1, -2, -6, -8 e -12) e quimiocinas, com base na inativação do fator de transcrição nuclear (NF- κ B), ou modulando a ativação de células do sistema imune (Ahmad *et al.*, 2020; Memarzia *et al.*, 2021). A curcumina reduz os níveis de enzimas que causam inflamação e atua como antioxidante eliminando radicais livres responsáveis por danificar as células do corpo (Verma *et al.*, 2018; El-Hack *et al.*, 2021).

Devido a isso, os efeitos medicinais da *C. longa* estão sendo estudados como neuroprotetivos (Wang *et al.*, 2010; Alcântara *et al.*, 2017), antivirais (Jennings; Parks, 2020), antibacterianos (Bhawana *et al.*, 2011; Reda *et al.*, 2020), antidepressivos (Madiha; Haider, 2019; Lopresti, 2022), entre outros.

Em modelos animais, o número de pesquisas baseadas na cúrcuma é crescente (Kotha; Luthria, 2019). O uso oral de curcumina por 8 semanas mostrou reduzir a progressão de osteoartrite em camundongos, por meio da supressão da expressão de genes codificadores de citocinas inflamatórias e enzimas degradadoras de cartilagem (Zhang *et al.*, 2016), enquanto a administração tópica sob a pele foi capaz de aliviar a dor causada pela doença, preservando a atividade condroprotetora da curcumina e aumentando sua biodisponibilidade (Zhang *et al.*, 2016). Em ratos induzidos à AR por CFA, a curcumina foi eficaz como tratamento da inflamação, associada à vitamina D3, diminuindo a ativação e a proliferação de células T (Silva *et al.*, 2019) e isoladamente (Meshkibaf; Maleknia; Noroozi, 2019; Wang *et al.*, 2019; Al-Mousawi; Al-Hamed; Ali, 2020), possivelmente, pela inibição da via do NF- κ B e por promover apoptose de macrófagos; isso também reduz a gravidade da artrite e suas alterações histopatológicas, como edema, hiperplasia sinovial, destruição óssea e cartilaginosa, além da inibição de citocinas pró-inflamatórias (Wang *et al.*, 2019).

Em ensaios clínicos com pacientes de osteoartrite, os curcuminoides foram eficientes em aliviar os sintomas e melhorar o tratamento da doença (Nakagawa *et al.*, 2014; Panahi *et al.*, 2014; Rahimnia *et al.*, 2015), enquanto, em pacientes com AR, a curcumina foi eficaz em aliviar a dor e os sintomas da doença (Chandran; Goel, 2012).

Efeitos adversos ao uso da cúrcuma foram relatados após administração intraperitoneal em ratas Lewis: 28 mg/Kg/dia de óleo essencial de cúrcuma causaram efeitos hepatotóxicos, associados à peritonite, sangramento gastrointestinal com anemia e dano hepatocelular, e 20% de mortalidade (Funk *et al.*, 2010). Em estudos clínicos, a administração oral não apresentou efeitos tóxicos importantes, mas foram relatados flatulência (Hanai *et al.*, 2006), constipação (Chuensgamarn *et al.*, 2012; Chuensgamarn *et al.*, 2014), náusea (Chuensgamarn *et al.*, 2014), febre leve e infecção de garganta (Chandran; Goel, 2012).

Em pacientes com osteoartrite, nenhuma toxicidade importante foi relatada com a ingestão oral de curcumina nas doses de 1 g/dia por três meses (Pinsornsak; Niempoog, 2012), 180 mg/dia por oito semanas (Nakagawa *et al.*, 2014) e 1500 mg/dia por seis semanas (Panahi *et al.*, 2014; Rahimnia *et al.*, 2015).

Quanto aos efeitos adversos produzidos por medicamentos utilizados no tratamento da AR, a administração prévia de cúrcuma melhorou o estresse oxidativo induzido pela indometacina e reduziu significativamente o número de úlceras pontiagudas e longitudinais no intestino (Sivalingam *et al.*, 2007). Também, foi capaz de diminuir a motilidade intestinal, o que possibilita seu uso como adjuvante para o tratamento de cólicas abdominais, diarreia e síndrome do intestino irritável (Kumar *et al.*, 2010), além de reduzir a inflamação intestinal de camundongos com colite aguda e crônica (Aldini *et al.*, 2012).

No entanto, é preciso estabelecer a relação entre os benefícios da curcumina para a saúde e seus metabólitos, a possível influência da curcumina na microbiota intestinal, assim como é preciso investigar se outros componentes da cúrcuma são também responsáveis pelos efeitos encontrados (Tsuda, 2018). Dessa forma, torna-se relevante compreender as ações da cúrcuma como anti-inflamatória e seu papel na redução da inflamação e dos danos intestinais causados pela AR.

4 MÉTODO

O estudo trata-se de uma pesquisa de caráter experimental e quantitativa, aprovada pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) (protocolo nº 13-22) (Anexo A), o qual foi realizado nos Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional (LABEF) e Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF), vinculados à UNIOESTE – *Campus* de Cascavel. Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes éticas da Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) (Zimmermann, 1983).

4.1 Animais e grupos experimentais

Ratos *Wistar* com idade média de 14 semanas e peso médio de 340 g, obtidos no Biotério Central da UNIOESTE, foram mantidos no Biotério Setorial do LELRF em caixas plásticas de polipropileno, com acesso à água e ração *ad libitum*, sob condições de luminosidade (ciclo claro/escuro 12 horas) e temperatura ($24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) controladas.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente nos grupos (n=28): Controle (CON; n=7), animais submetidos a injeções com solução salina 0,9% e gavagem com água; Cúrcuma (CM; n=7), animais suplementados com 100 mg/kg/dia de extrato seco de *C. longa*; Artrite (A; n=7), animais que foram submetidos à indução experimental da AR, porém, sem nenhuma forma de tratamento; e Artrite Cúrcuma (ACM; n=7), animais que foram induzidos à AR e suplementados com 100 mg/kg/dia de extrato seco de *C. longa*.

4.2 Modelo experimental de artrite reumatoide

A indução da inflamação articular foi baseada em Gomes *et al.* (2013). Os animais dos grupos A e ACM foram pré-sensibilizados com injeção intradérmica, na base da cauda, de 50 µL de Adjuvante Completo de Freund (CFA) (0,5 mg/mL, *Mycobacterium butyricum*) e, após sete dias, ocorreu a aplicação de 50 µL de CFA na

articulação tibiofibular direita dos animais. Os demais grupos (CON e CM) receberam os mesmos estímulos, nos tempos determinados, mas com o uso de injeção intradérmica com solução salina 0,9% (Figura 5).

Para ambos os procedimentos, as áreas de administração foram tricotomizadas e submetidas à assepsia com álcool iodado 1%.

4.3 Protocolo de suplementação de *Curcuma longa* L.

O protocolo de suplementação para os grupos CM e ACM foi iniciado 24 horas após a injeção intra-articular e realizado por gavagem durante 15 dias consecutivos (Figura 5). Todos os animais foram pesados antes da injeção intra-articular e, novamente, após uma semana para ajuste das doses ministradas. Os animais receberam por via oral a suspensão com 100 mg/Kg/dia de extrato seco de *C. longa*, adquirido em farmácia de manipulação, diluído em água, uma vez ao dia (Nonose *et al.*, 2014). Os grupos CON e A receberam água, por gavagem, durante o mesmo período.

4.4 Parâmetros corporais

Todos os animais foram pesados no início e final do experimento. Antes da eutanásia, foram realizadas as medidas de peso corporal e do comprimento nasoanal para o cálculo do índice de Lee {[peso corporal (g) / comprimento nasoanal (cm)] x 1000} (Bernardis; Patterson, 1968). Após a eutanásia, as gorduras retroperitoneal e periepididimal foram coletadas e pesadas.

4.5 Avaliações funcionais

Os animais de todos os grupos foram submetidos a cinco avaliações funcionais, sendo realizadas três aferições para cada avaliação funcional, obtendo-se a média aritmética simples. No caso do Teste de Incapacitação Articular, foi realizada apenas uma aferição em cada avaliação funcional. O avaliador não teve acesso ao grupo a que cada animal pertencia. Durante uma semana antes do início do experimento, os

animais foram treinados e adaptados aos equipamentos. Foi realizada a avaliação basal (AVB), no mesmo dia após a injeção intradérmica. Ao terceiro dia após a injeção intra-articular (11º dia de experimento), foi realizada a avaliação funcional 1 (AV1) e, nos dias 15º, 19º e 23º, foram realizadas as demais avaliações (AV2, AV3 e AV4, respectivamente) (Figura 5).

4.5.1 Avaliação do edema articular

Os animais foram contidos e a avaliação do edema da articulação tibiofibular (eixo médio-lateral) foi realizada com paquímetro analógico (Gomes *et al.*, 2014). Os dados foram expressos em centímetros (cm).

4.5.2 Teste de Incapacitação Articular

A incapacitação articular foi mensurada através do tempo (segundos) de elevação da pata. Os animais foram estimulados a deambular sobre um cilindro em rotação a 3 RPM (rotação por minuto), durante 60 segundos, com eletrodos acoplados a sapatilhas metálicas nos membros pélvicos. O teste registrou o tempo total de elevação da pata (TEP) (Insight, Ribeirão Preto, São Paulo) (Gomes *et al.*, 2014).

4.5.3 Força de preensão

Foi utilizado um medidor de força de preensão (Insight, Ribeirão Preto, São Paulo), conforme Bertelli e Mira (1995). Os animais foram posicionados de modo que o membro pélvico direito se agarrasse a uma manopla acoplada a um transdutor de força; depois, foram gentilmente tracionados pela cauda até que a pegada fosse perdida. O membro pélvico esquerdo foi imobilizado pela mão do avaliador para evitar interferência. A força exercida pelo animal foi expressa em gramas (g).

4.5.4 Avaliação da nocicepção – Von Frey Digital

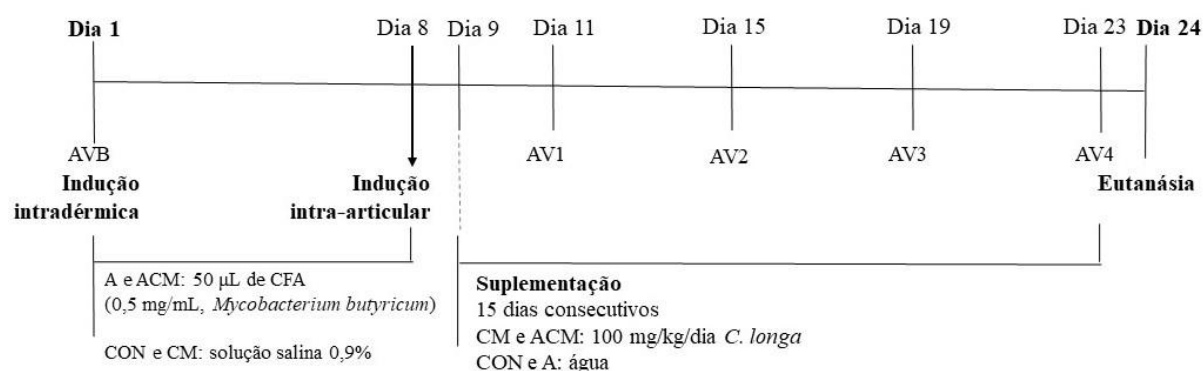
Foi utilizado um analgesímetro digital, contendo um transdutor de pressão conectado a um contador digital de força (Insight, Ribeirão Preto, São Paulo). Os animais foram colocados em caixas elevadas com assoalho de malha constituída de arame não maleável. O avaliador aplicou, por entre as malhas da rede, uma pressão linearmente crescente com analgesímetro digital, no centro da superfície plantar da

pata pélvica direita, até que o animal retirasse o membro. A intensidade de hipernocicepção foi quantificada com a variação na pressão suportada pelo animal e foi expressa em gramas (g) (Chaplan *et al.*, 1994).

4.6 Eutanásia

No 24º dia de experimento, os animais foram eutanasiados por meio de sobredosagem, de três vezes a dose requerida para a anestesia geral, da associação dos anestésicos Cetamina (240 mg/kg) e Xilazina (45 mg/kg), administrados via intraperitoneal (Figura 5).

Figura 5 – Desenho esquemático da cronologia do experimento.



Grupos Controle (CON), Cúrcuma (CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma (ACM), Adjuvante Completo de Freund (CFA), avaliação basal (AVB), avaliação funcional 1 (AV1), avaliação funcional 2 (AV2), avaliação funcional 3 (AV3) e avaliação funcional 4 (AV4). Fonte: A autora (2024).

4.7 Análises do intestino delgado

4.7.1 Coleta e processamento histológico

Após a laparotomia, o intestino delgado de cada animal foi coletado e teve seu comprimento mensurado (do piloro à junção ileocecal) com fita métrica. O íleo foi identificado e, após a mensuração da sua circunferência com paquímetro analógico, foram obtidas amostras para serem posteriormente submetidas aos seguintes protocolos: processamento histológico e inclusão em parafina para estudo histomorfométrico da parede intestinal e para análise quantitativa da população de

linfócitos intraepiteliais; e obtenção de preparados totais da túnica muscular, contendo o plexo mioentérico, para avaliar a população total de neurônios mioentéricos.

Para o processamento histológico e inclusão em parafina, amostras do íleo foram abertas na borda mesentérica, lavadas com solução salina 0,9%, fixadas em solução de Bouin por seis horas, desidratadas em séries crescentes de álcoois, diafanizadas em xilóis e submetidas à técnica de inclusão em parafina. Foi realizada a microtomia (Leica, Nussloch, Alemanha) com cortes semisseriados de 5 µm de espessura. Nas análises morfométricas da parede intestinal e quantificação dos linfócitos intraepiteliais, as lâminas obtidas foram submetidas à coloração pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE), voltada à descrição tecidual do órgão (Junqueira; Junqueira, 1983).

4.7.2 Histomorfometria da parede intestinal

Nas análises referentes à altura e largura dos vilos, profundidade das criptas, e espessura da túnica muscular e da parede total (do ápice do vilo ao mesotélio da túnica serosa), foram realizadas 50 medidas aleatórias por animal e para cada parâmetro (Soares *et al.*, 2015), a partir de imagens capturadas em fotomicroscópio Olympus BX60 acoplado a câmera DP71, com auxílio dos programas DP Controller e DP Manager (Olympus, Tóquio, Japão), em objetiva de 10x. As medidas foram realizadas através do software Image-Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Maryland, USA).

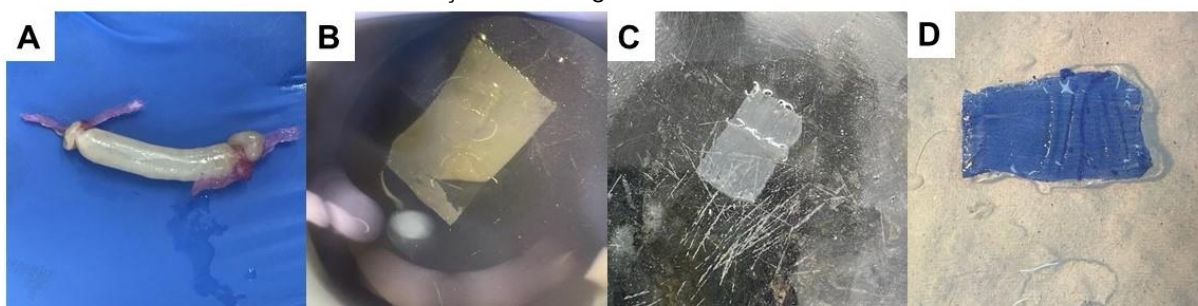
4.7.3 Análise quantitativa dos linfócitos intraepiteliais

A quantificação foi realizada com microscópio de luz (Olympus, Tóquio, Japão), em objetiva de 40x. Os linfócitos intraepiteliais evidenciados pela técnica de HE foram quantificados ao longo dos vilos intestinais. Foi contado o número total de células da região e a proporção de linfócitos intraepiteliais, num total aproximado de 2.500 células por animal. Os dados foram expressos como porcentagem de linfócitos intraepiteliais em relação ao número total de células quantificadas (Ferguson; Murray, 1971).

4.7.4 Detecção da população total de neurônios mioentéricos (Técnica de Giemsa)

Para obtenção de preparados totais da túnica muscular contendo o plexo mioentérico, amostras do íleo foram lavadas em solução salina 0,9%, preenchidas e submersas no fixador de Giemsa (Barbosa,1978), por pelo menos 24 horas, com as extremidades amarradas com fio acrílico para manter o preenchimento. As amostras foram abertas na borda mesentérica e microdissecadas em estereomicroscópio com transiluminação (Olympus SZ40, Tóquio, Japão), com remoção das camadas mucosa e submucosa, além da preservação das camadas muscular e serosa (Figura 6). Os preparados totais foram corados com solução de Giemsa em Tampão fosfato de Sorensen, pH 7,0 (Barbosa,1978), sob agitação por 24 horas, e, após esse período, foram desidratados em álcoois, diafanizados em xilóis e montados sobre lâminas e lamínulas com resina sintética.

Figura 6 – Técnica de preparado total em solução de Giemsa. A: Amostra do íleo com as extremidades amarradas e preenchidas com fixador de Giemsa. B: Microdissecação em estereomicroscópio com transiluminação, com as camadas mucosa e submucosa parcialmente removidas. C: Amostra microdissecada, contendo as camadas muscular e serosa, sem coloração. D: Amostra corada com solução de Giemsa para ser submetida ao protocolo de desidratação, diafanização e montagem em resina sintética.



Fonte: A autora (2024).

4.7.5 Análise morfoquantitativa dos neurônios mioentéricos

Foram capturadas imagens por meio de fotomicroscópio Olympus BX60 acoplado à câmera DP71, com auxílio dos programas DP Controller e DP Manager (Olympus, Tóquio, Japão), em objetiva de 20x. As imagens foram capturadas por amostragem aleatória em todo o preparado total da lâmina histológica, sem selecionar campos visuais específicos e sem capturar o mesmo campo mais de uma vez. Foram contados os neurônios presentes em 30 imagens por animal (Soares *et al.*, 2015). A área de cada imagem foi aproximadamente 0,387 mm² e a área total quantificada foi 11,62 mm². Os resultados foram expressos como neurônios por mm².

Para a mensuração da área neuronal, foram utilizados 100 corpos celulares neuronais por animal, utilizando o software Image-Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Maryland, USA). As medições foram feitas em neurônios, de maneira que foi possível ver claramente os limites do corpo celular. Os resultados foram expressos em μm^2 .

4.8 Análise estatística

Os resultados foram analisados por meio do teste de modelo generalizado misto seguido de pós-teste de Fisher (LSD), por meio do programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão para todos os parâmetros analisados. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Parâmetros corporais e comprimento intestinal

A indução da AR não influenciou o peso corporal nos grupos A e ACM, assim como a suplementação de cúrcuma nos grupos CM e ACM ($p=0,532$) (Tabela 1). Similarmente, não houve diferença significativa nas proporções de gorduras perigonadal ($p=0,428$) e retroperitoneal ($p=0,563$) entre os grupos CM, A e ACM quando comparados ao CON. O comprimento nasoanal foi semelhante entre todos os grupos ($p=0,188$), no entanto, o índice de Lee foi menor quando comparados ao CON (A e ACM: $p=0,005$; CM: $p=0,031$) (Tabela 1).

Em relação ao comprimento do intestino delgado ($p=0,195$) e diâmetro do íleo ($p=0,130$), os dados foram semelhantes nos grupos experimentais (Tabela 1).

Tabela 1 – Parâmetros corporais e macroscópios grupos Controle (CON), Cúrcuma (CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma (ACM).

	CON	CM	A	ACM
Peso corporal inicial (g)	326,86 ± 52,46	332,57 ± 36,03	337,43 ± 59,37	338,00 ± 41,78
Peso corporal final (g)	324,00 ± 51,81	325,29 ± 20,84	320,14 ± 29,11	316,86 ± 26,02
Diferença de peso corporal (g) (final-inicial)	-2,86 ^a	-7,29 ^a	-17,29 ^a	-21,14 ^a
Gordura perigonadal (g/100g de peso corporal)	1,35 ± 0,31 ^a	1,21 ± 0,27 ^a	1,19 ± 0,31 ^a	1,11 ^a ± 0,10 ^a
Gordura retroperitoneal (g/100g de peso corporal)	0,85 ± 0,19 ^a	0,78 ± 0,25 ^a	0,83 ± 0,31 ^a	0,70 ± 0,11 ^a
Comprimento nasoanal (cm)	22,49 ± 1,56 ^a	23,30 ± 0,53 ^a	23,40 ± 0,69 ^a	23,34 ± 0,86 ^a
Índice de Lee	305,12 ± 11,51 ^a	295,13 ± 6,94 ^b	292,17 ± 6,11 ^b	292,11 ± 10,20 ^b
Comprimento do intestino delgado (cm)	103,07 ± 17,12 ^a	108,43 ± 8,24 ^a	96,07 ± 13,30 ^a	99,89 ± 5,53 ^a
Diâmetro do íleo (cm)	0,31 ± 0,09 ^a	0,29 ± 0,04 ^a	0,25 ± 0,09 ^a	0,24 ± 0,05 ^a

Dados expressos como média ± desvio padrão (n=7). Teste de modelo generalizado misto seguido de pós-teste de Fisher (LSD). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ($p<0,05$).

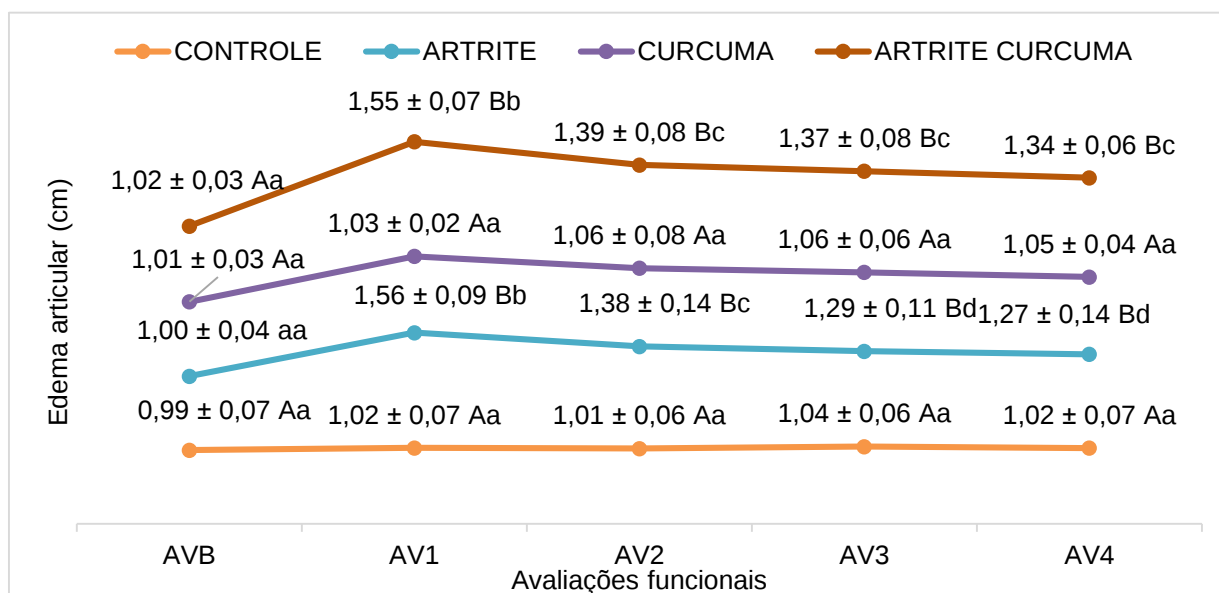
5.2 Avaliações funcionais

5.2.1 Avaliação do edema articular

A avaliação do edema articular foi diferente entre os grupos ($p < 0,0001$), entre as avaliações funcionais ($p < 0,0001$), e houve interação entre os grupos e as avaliações ($p < 0,0001$).

Os valores de edema articular dos grupos artríticos foram maiores que nos grupos controles ($p < 0,0001$) em todas as AVs. Não houve diferença significativa entre os grupos CM e CON (AV1: $p = 0,863$; AV2: $p = 0,306$; AV3: $p = 0,588$; AV4: $p = 0,580$), assim como entre os grupos ACM e A (AV1: $p = 0,836$; AV2: $p = 0,729$; AV3: $p = 0,062$; AV4: $p = 0,074$). Entre as avaliações funcionais, o edema articular do grupo A foi maior em todas as AVs, quando comparadas à AVB ($p < 0,0001$), assim como o grupo ACM ($p < 0,0001$). As avaliações dos grupos CM e CON foram semelhantes à AVB (Figura 7).

Figura 7 – Avaliação do edema articular entre grupos Controle, Cúrcuma, Artrite e Artrite Cúrcuma.



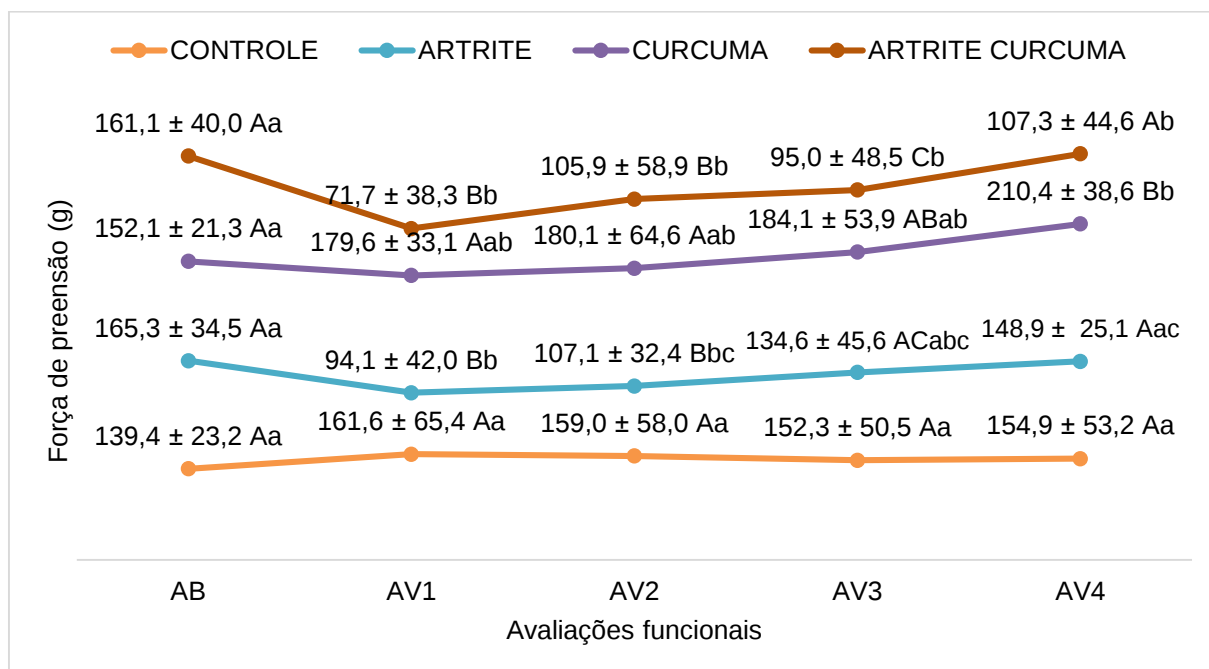
Valores expressos como média ± desvio padrão ($n = 7$). Teste de modelo generalizado misto seguido de pós-teste de Fisher (LSD). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os grupos nas avaliações funcionais ($p < 0,05$). Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as avaliações funcionais dos grupos ($p < 0,05$).

5.2.2 Força de preensão

A avaliação da força de preensão foi diferente entre os grupos ($p < 0,0001$), mas não entre as avaliações funcionais ($p = 0,106$); no entanto, houve interação entre os grupos e as avaliações ($p = 0,021$).

O grupo A teve menor força de preensão do que o CON nas AV1 e AV2, enquanto, nas AV3 e AV4, os dois grupos foram semelhantes (AV1: $p = 0,006$; AV2: $p = 0,035$; AV3: $p = 0,467$; AV4: $p = 0,805$). O grupo ACM teve menor força de preensão nas AV1, AV2 e AV3, quando comparado ao CON (AV1: $p < 0,0001$; AV2: $p = 0,031$; AV3: $p = 0,020$; AV4: $p = 0,052$). Entre os grupos ACM e A, não houve diferenças significativas nas avaliações (AV1: $p = 0,357$; AV2: $p = 0,958$; AV3: $p = 0,106$; AV4: $p = 0,089$). O grupo CM foi semelhante ao CON, nas AV1, AV2 e AV3, mas teve maior força de preensão na AV4 (AV1: $p = 0,460$; AV2: $p = 0,386$; AV3: $p = 0,192$; AV4: $p = 0,024$) (Figura 8).

Figura 8 – Avaliação da força de preensão entre os grupos Controle, Cúrcuma, Artrite e Artrite Cúrcuma.



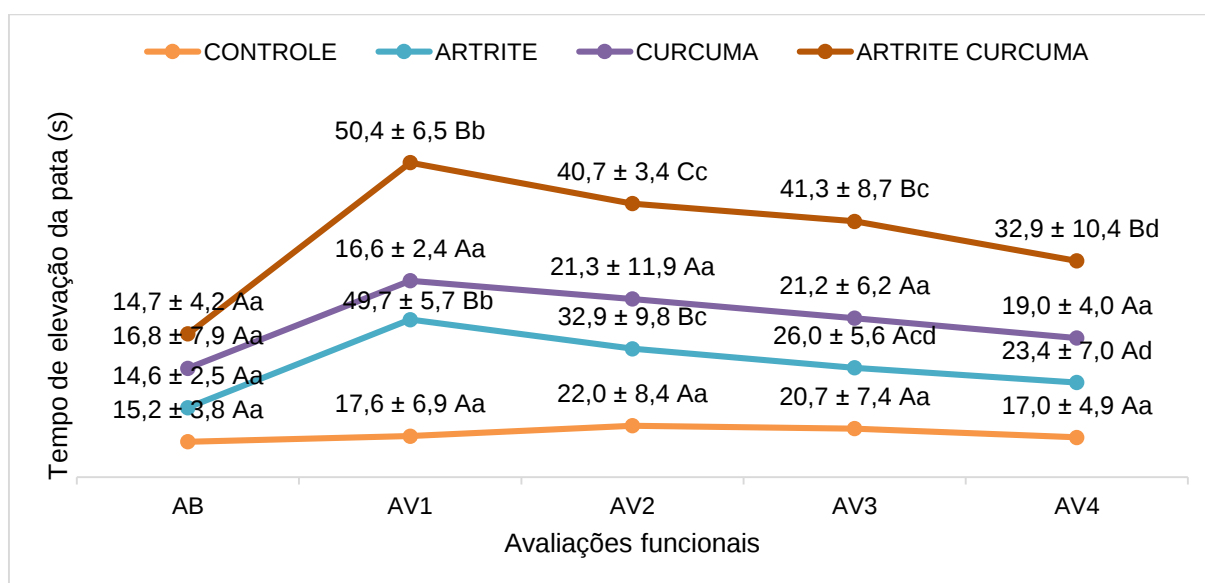
Valores expressos como média ± desvio padrão ($n = 7$). Teste de modelo generalizado misto seguido de pós-teste de Fisher (LSD). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os grupos nas avaliações funcionais ($p < 0,05$). Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as avaliações funcionais dos grupos ($p < 0,05$).

5.2.3 Teste de Incapacitação Articular

O tempo de elevação de pata (TEP) foi diferente entre os grupos ($p<0,0001$), entre as avaliações funcionais ($p<0,0001$) e houve interação entre os grupos e as avaliações ($p<0,0001$).

O grupo A foi maior nas AV1 e AV2 quando comparado ao CON, no entanto, nas AV3 e AV4, os dois grupos foram semelhantes (AV1: $p<0,0001$; AV2: $p=0,004$; AV3: $p=0,156$; AV4: $p=0,083$). No grupo ACM, o TEP foi maior em todas as AVs quando comparado ao CON ($p<0,0001$) e, a partir da AV2, o TEP foi maior quando comparado ao A (AV1: $p=0,843$; AV2: $p=0,035$; AV3: $p<0,0001$; AV4: $p=0,011$). Os grupos CM e CON foram semelhantes em todas as avaliações (AV1: $p=0,795$; AV2: $p=0,846$; AV3: $p=0,905$; AV4: $p=0,579$). Entre as avaliações funcionais, todas as AVs foram maiores do que a AVB nos grupos A (AV1 e AV2: $p<0,0001$; AV3: $p=0,002$; AV4: $p=0,018$) e ACM ($p<0,0001$) (Figura 9).

Figura 9 - Avaliação do Teste de Incapacitação Articular entre os grupos Controle, Cúrcuma, Artrite e Artrite Cúrcuma.



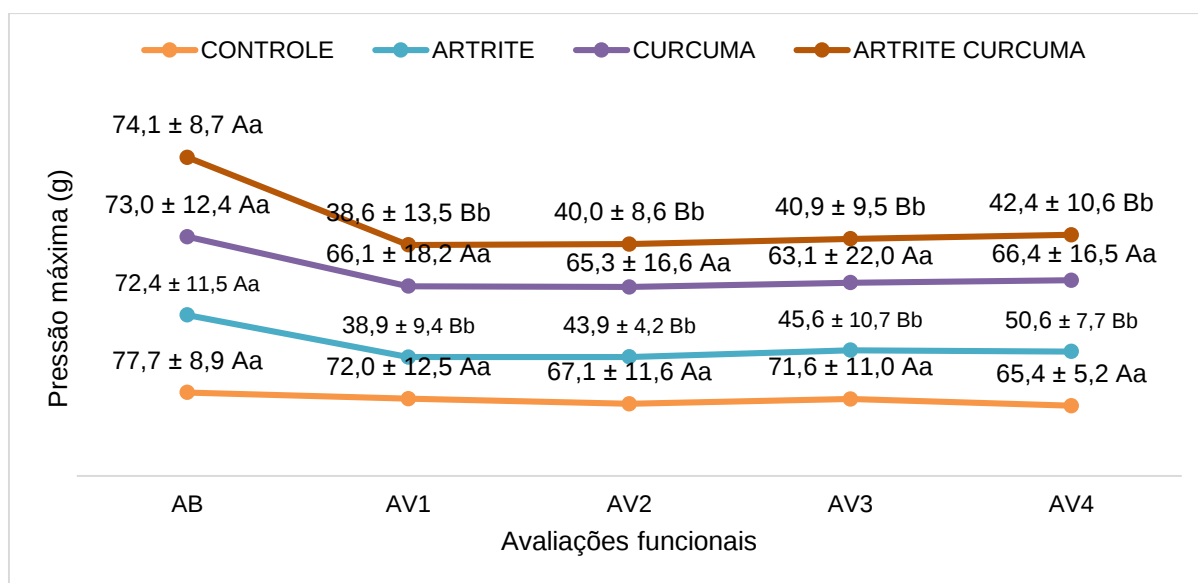
Valores expressos como média ± desvio padrão (n=7). Teste de modelo generalizado misto seguido de pós-teste de Fisher (LSD). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os grupos nas avaliações funcionais ($p<0,05$). Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as avaliações funcionais dos grupos ($p<0,05$).

5.2.4 Avaliação da nocicepção

A avaliação da nocicepção por meio do Von Frey Digital mostrou diferença entre os grupos ($p < 0,0001$), entre as avaliações funcionais ($p < 0,0001$), e houve interação entre os grupos e as avaliações ($p = 0,026$).

A nocicepção do grupo A foi menor em todas as avaliações quando comparado ao grupo CON (AV1: $p < 0,001$; AV2: $p = 0,001$; AV3: $p < 0,0001$; AV4: $p = 0,024$). O mesmo ocorreu com o grupo ACM (AV1, AV2 e AV3: $p < 0,0001$; AV4: $p = 0,001$). Os grupos CM e CON foram semelhantes em todas as AVs (AV1: $p = 0,371$; AV2: $p = 0,776$; AV3: $p = 0,199$; AV4: $p = 0,878$), assim como os grupos ACM e A (AV1: $p = 0,965$; AV2: $p = 0,555$; AV3: $p = 0,471$; AV4: $p = 0,214$). Todas as AVs foram menores do que a AVB no grupo A (AV1, AV2 e AV3: $p < 0,0001$; AV4: $p = 0,001$) e ACM ($p < 0,0001$). Nos grupos CM e CON, não houve diferenças significativas (Figura 10).

Figura 10 - Avaliação da nocicepção entre os grupos Controle, Cúrcuma, Artrite e Artrite Cúrcuma.



Valores expressos como média ± desvio padrão ($n = 7$). Teste de modelo generalizado misto seguido de pós-teste de Fisher (LSD). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os grupos nas avaliações funcionais ($p < 0,05$). Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as avaliações funcionais dos grupos ($p < 0,05$).

5.3 Histomorfometria da parede intestinal e densidade de linfócitos intraepiteliais

A indução da AR e a suplementação de cúrcuma não alteraram a espessura total da parede intestinal ($p = 0,671$), altura dos vilos ($p = 0,276$), profundidade das

criptas ($p=0,724$) e espessura da túnica muscular ($p=0,957$) nos animais artríticos em relação aos controles. Entretanto, efeitos significativos foram observados em relação à largura dos vilos, com redução de 11% no grupo A ($p=0,002$) e de 7% nos grupos CM ($p=0,048$) e ACM ($p=0,035$) em relação ao CON (Tabela 2) (Figura 11).

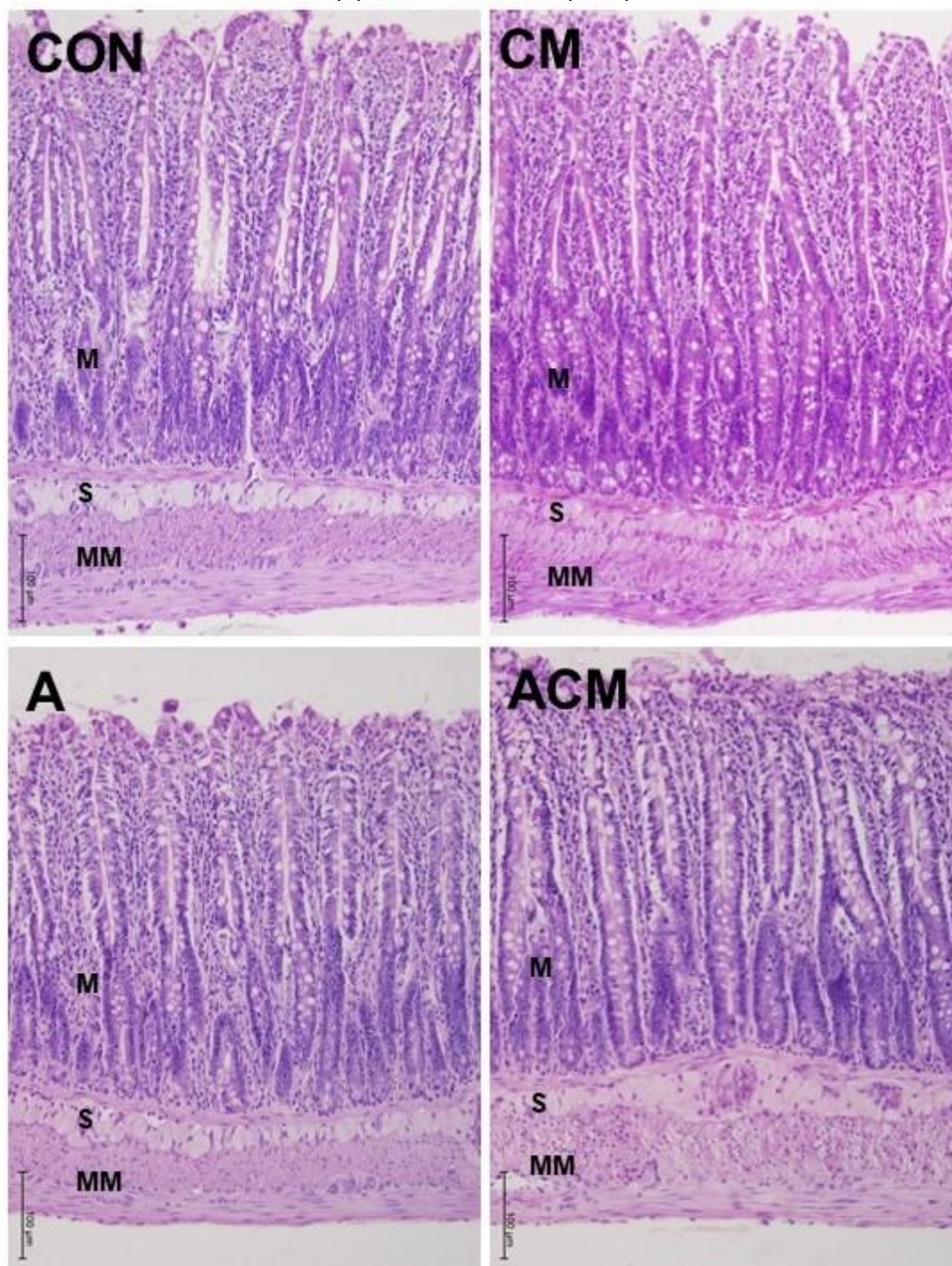
A análise quantitativa dos linfócitos intraepiteliais revelou que a indução da AR e a suplementação de cúrcuma não influenciaram a proporção dessas células, que foi semelhante entre todos os grupos experimentais ($p=0,146$) (Tabela 2).

Tabela 2 – Parâmetros morfométricos dos grupos Controle (CON), Cúrcuma (CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma (ACM).

Parâmetros (μm)	CON	CM	A	ACM
Espessura da parede total	623,81 $\pm$ 82,40 ^a	591,56 $\pm$ 24,91 ^a	628,30 $\pm$ 70,14 ^a	604,65 $\pm$ 34,85 ^a
Altura dos vilos	274,61 $\pm$ 43,22 ^a	245,41 $\pm$ 26,87 ^a	267,40 $\pm$ 40,65 ^a	240,91 $\pm$ 26,57 ^a
Largura dos vilos	78,52 $\pm$ 4,64 ^a	72,79 $\pm$ 6,99 ^b	69,96 $\pm$ 2,35 ^b	72,71 $\pm$ 3,65 ^b
Profundidade das criptas	181,60 $\pm$ 31,28 ^a	188,93 $\pm$ 6,90 ^a	193,31 $\pm$ 26,59 ^a	195,72 $\pm$ 15,02 ^a
Espessura da túnica muscular	103,86 $\pm$ 15,63 ^a	101,32 $\pm$ 13,51 ^a	104,04 $\pm$ 8,18 ^a	105,06 $\pm$ 8,62 ^a
% Linfócitos intraepiteliais	11,52 $\pm$ 2,01 ^a	15,29 $\pm$ 2,06	16,19 $\pm$ 4,63	15,52 $\pm$ 5,56

Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n=5$). Teste de modelo generalizado misto seguido de pós-teste de Fisher (LSD). Diferentes letras indicam diferença significativa ($p<0,05$).

Figura 11 – Fotomicrografias da parede intestinal dos grupos Controle (CON), Cúrcuma (CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma (ACM).



Secções longitudinais do íleo. Túnica mucosa (M), submucosa (S) e muscular (MM). Coloração HE.

5.4 Análise morfoquantitativa dos neurônios mioentéricos

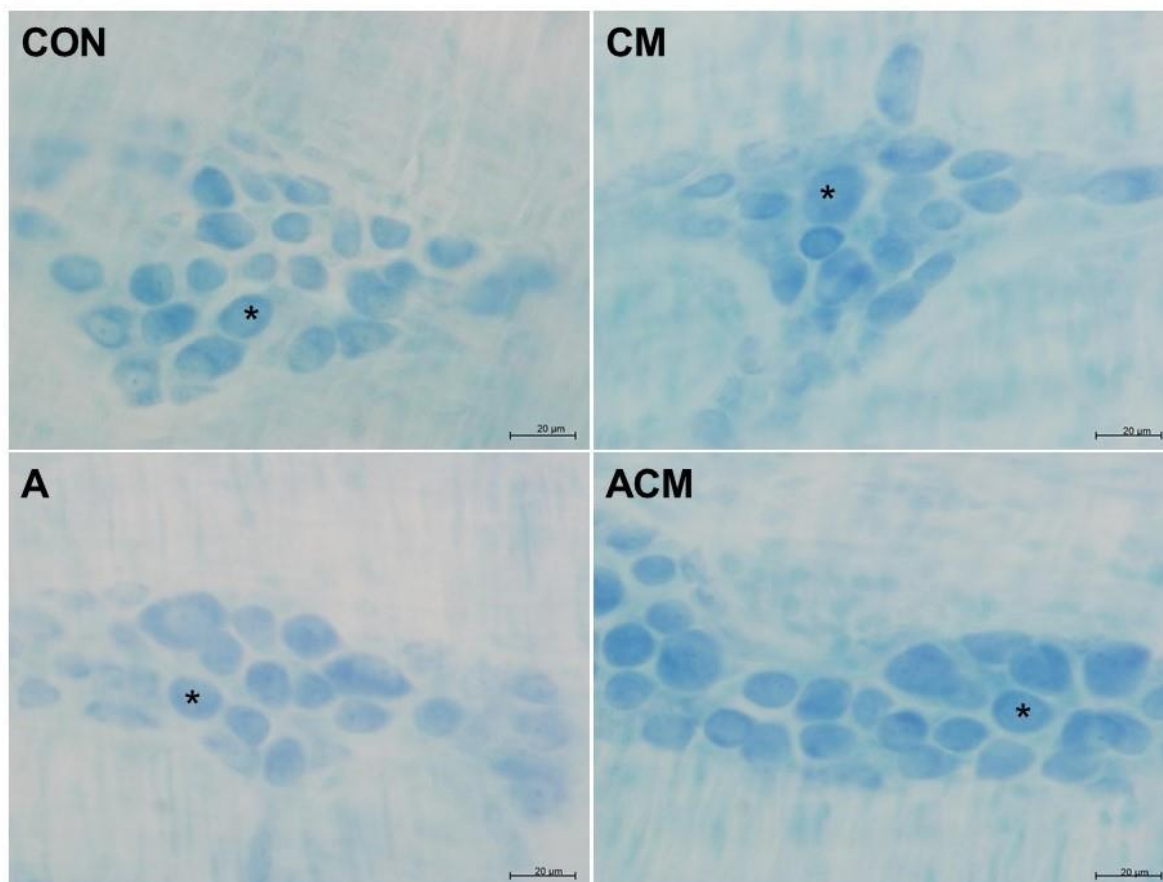
A indução da AR e a suplementação de cúrcuma não influenciaram as áreas dos corpos neuronais ($p=0,079$) e a densidade ($p=0,084$) dos neurônios mioentéricos da população total do íleo (Tabela 3; Figura 12).

Tabela 3 – Área do corpo neuronal e densidade de neurônios mioentéricos no íleo dos grupos Controle (CON), Cúrcuma (CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma (ACM).

	CON	CM	A	ACM
Área corpo neuronal (μm^2)	$190,32 \pm 35,68^a$	$228,26 \pm 33,59^a$	$218,63 \pm 22,80^a$	$213,96 \pm 28,86^a$
Densidade (neurônios por mm^2)	$237,65 \pm 29,45^a$	$219,01 \pm 37,41^a$	$237,43 \pm 20,53^a$	$214,35 \pm 33,77^a$

Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n=7$). Teste de modelo generalizado misto seguido de pós-teste de Fisher (LSD). Diferentes letras indicam diferença significativa ($p<0,05$).

Figura 12 – Fotomicrografias de gânglios do plexo mioentérico dos grupos Controle (CON), Cúrcuma (CM), Artrite (A) e Artrite Cúrcuma (ACM).



Preparado total da túnica muscular do íleo. Neurônio mioentérico (*). Coloração solução de Giemsa.

6 DISCUSSÃO

Ao final do experimento, os animais induzidos à AR não apresentaram variação de peso significativa em relação aos controles, bem como nas gorduras corporais avaliadas. Entretanto, houve diminuição no índice de Lee dos animais artríticos e, embora esse índice seja utilizado como um indicador de obesidade em roedores, é correlacionado com o teor de gordura corporal (Bernardis; Patterson, 1968). Similarmente, Noh *et al.* (2021) observaram perda de peso corporal apenas nos animais induzidos com 10 mg/mL de CFA, sem alterações significativas quando submetidos a concentrações menores, de 5 e 7,5 mg/mL.

Quando analisados os grupos suplementados com *C. longa*, assim como observado nos animais artríticos, foram observados efeitos apenas no índice de Lee, que se mostrou reduzido. Rinkunaite *et al.* (2021) não encontraram alterações no peso corporal de animais artríticos tratados com 170 mg/kg de curcumina em diferentes formas de administração e sugerem que a intensidade dos seus efeitos depende da sua preparação. A suplementação de 200 mg/kg de pó puro do rizoma da cúrcuma modulou a perda de peso nos animais artríticos por aumentar a ingestão de alimentos (Ramadan *et al.*, 2011). Dessa forma, a concentração de extrato seco de cúrcuma utilizada no estudo, de 100 mg/kg, pode não ter sido suficiente para promover os efeitos observados nos estudos descritos.

Como forma de verificar o estabelecimento da condição inflamatória e visto que, ao longo da duração da AR, a incapacidade funcional está correlacionada com o dano articular, foram realizadas cinco avaliações funcionais durante o experimento, avaliando quanto ao diâmetro e incapacidade articular, força de preensão e nocicepção. As observações revelaram que a concentração de CFA promoveu inflamação nos animais e induziu à AR. Os grupos artríticos apresentaram maior edema articular em todas as avaliações após a indução da AR, que não foi revertido pela suplementação de cúrcuma no grupo ACM, dado que ambos os grupos apresentaram redução do edema a partir da AV2. O edema articular é considerado o melhor indicador de artrite experimental e é observado em diversos estudos que

utilizaram o modelo de CFA (Ramadan *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2014; Noh *et al.*, 2021; Rinkunaite *et al.*, 2021).

Em adição, maior incapacitação articular foi observada após a indução da AR (AV1), que se mostrou reduzida nos grupos artríticos a partir da AV2; o grupo A apresentou-se semelhante aos grupos controles nas AV3 e AV4, enquanto o grupo ACM, apresentou redução da incapacitação a partir da AV2 e maior valor de incapacitação do que os grupos controles e o grupo A nas AV3 e AV4. No teste de força de preensão, foi observada redução nos grupos artríticos nas AV1 e AV2, no entanto, estavam semelhantes ao CON na última avaliação funcional (AV4); o grupo suplementado sem a indução da AR (CM) apresentou aumento da força de preensão ao longo das avaliações, com valor maior do que os demais grupos na AV4. Na análise da nocicepção, os grupos artríticos apresentaram valores menores do que os grupos controles ao longo das avaliações, sem manutenção dos valores no final do experimento.

Na patogênese da AR, estão envolvidas citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. O TNF- α , citocina pró-inflamatória, produzido principalmente por monócitos e macrófagos, além de estar envolvido na manutenção da sinovite na AR experimental, é associado a marcadores clínicos e laboratoriais de gravidade da AR (Ramadan *et al.*, 2011). A infiltração de células inflamatórias, bem como a adesão de neutrófilos e linfócitos nas células endoteliais é facilitada pelo TNF- α (Ramadan *et al.*, 2011), enquanto o aumento dos níveis de leucócitos totais, promove a liberação de moléculas citotóxicas e imunorreguladoras, impulsionando o desenvolvimento da AR (Rinkunaite *et al.*, 2021). O TNF- α pode ser encontrado no soro e no líquido sinovial de ratos induzidos à AR e é responsável por induzir a produção das demais citocinas pró-inflamatórias associadas à manifestação da AR, como IL-1 e IL-6, que também são encontradas em nível elevado em ratos induzidos à AR por CFA (Ramadan *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2019; Rinkunaite *et al.*, 2021).

As reações inflamatórias podem gerar dificuldades locomotoras, com marcha anormal e redução do limiar de retirada da pata e do limiar de retirada térmica, que sugerem um estado de alodínia tátil e de hiperalgesia térmica, principalmente com a indução em concentrações mais altas (Noh *et al.*, 2021). No presente estudo, a indução de 0,5 mg/mL promoveu alterações funcionais nos animais, observado pelo

aumento do tempo de elevação da pata, redução da força de preensão e da nocicepção ao longo das avaliações. No entanto, o desenvolvimento da AR por CFA ocorre de diferentes maneiras em cada animal, tornando-se uma limitação nos estudos que utilizam esse modelo (Rinkunaite *et al.*, 2021); além do mais, a dosagem utilizada também pode influenciar os resultados (Noh *et al.*, 2021).

Diversos estudos mostraram que a cúrcuma pode regular a ativação de linfócitos T e B, macrófagos, neutrófilos e células dendríticas (Ramadan *et al.*, 2011) e é capaz de reduzir a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-12 e NF-K β , atribuídos à sua atividade antioxidante e inibitória de neutrófilos (Ramadan *et al.*, 2011; Rinkunaite *et al.*, 2021; Somasundaram, 2014). Quanto ao efeito da cúrcuma no edema articular de ratos artríticos, a administração 170 mg/kg em forma lipossomal e micelar apresentou eficácia na prevenção do inchaço durante os primeiros dias após a indução (Rinkunaite *et al.*, 2021), enquanto 200 mg/kg em pó suprimiram a gravidade da artrite aliviando o edema articular (Ramadan *et al.*, 2011). Entretanto, com o avanço da AR nos animais, não foram observados efeitos anti-inflamatórios da curcumina, indiferentemente do preparo do tratamento (Rinkunaite *et al.*, 2021). Semelhante a esse resultado, a administração de 100 mg/kg de curcumina mostrou efeito anti-inflamatório precoce, reduzindo a inflamação da articulação apenas nas primeiras seis horas após a indução da AR (Nonose *et al.*, 2014). Quando formulada por nanoemulsificação, a curcumina mostrou ter efeitos imunossupressores e na migração de macrófagos, suprimindo a inflamação por meio da inibição da sinalização de NF-K β (Young *et al.*, 2014).

No presente estudo, a administração de extrato seco de cúrcuma não promoveu efeitos anti-inflamatórios, observados nas avaliações funcionais, em que o grupo artrítico suplementado se manteve semelhante ao artrítico sem suplementação ao longo de todo o experimento. Esses efeitos se devem possivelmente à baixa biodisponibilidade da curcumina quando administrada em extrato puro, além de ser bastante instável, pouco solúvel em água e rapidamente metabolizada (Nonose *et al.*, 2014; Rinkunaite *et al.*, 2021). Além disso, não foram realizadas análises de quantificação dos níveis séricos de citocinas pró e anti-inflamatórias, o que se torna uma limitação do estudo.

A suplementação de cúrcuma, no entanto, aumentou a força de preensão no grupo CM nas AV3 e AV4, quando comparado ao CON. Como antioxidante, a curcumina pode aumentar a força muscular, porém, seus efeitos parecem depender da dose ofertada e do seu modo de preparação (Huang *et al.*, 2015; Sahin *et al.*, 2021). A avaliação da força de preensão reflete a saúde geral do sistema musculoesquelético (Huang *et al.*, 2015); no entanto, no grupo ACM, a cúrcuma não reverteu os efeitos deletérios causados pela AR na força muscular.

A AR também pode afetar o trato gastrointestinal: a inervação intrínseca, a estrutura e constituintes celulares da parede intestinal podem ser alterados, conforme descrito em modelo artrítico, e as possíveis repercussões funcionais poderiam predispor sintomas gastrointestinais observados em pacientes com AR (Bossolani *et al.*, 2019). São descritos redução da área intestinal (Souza *et al.*, 2011; Zandoni; Bossolani, 2019), da altura dos vilos e da espessura total da parede intestinal após a AR experimental, indicando atrofia (Bossolani *et al.*, 2019). No entanto, a doença parece não afetar o comprimento e o diâmetro do intestino delgado (Souza *et al.*, 2011; Zandoni; Bossolani, 2019). Os dados obtidos sustentam em parte essas observações, pois, apesar da morfometria da parede intestinal, dos vilos e das criptas ter se mantido quase inalterada, a largura dos vilos estava reduzida nos animais artríticos e o comprimento e diâmetro terminal do intestino delgado não foram influenciados pela AR. A alteração observada nos vilos sugere um processo atrófico; além disso, a homeostase epitelial intestinal, resultante do equilíbrio entre a proliferação celular nas criptas, e a eliminação no ápice dos vilos (Negróni; Cucchiara; Stronati, 2015) foram moduladas pela AR. Por outro lado, poderia indicar uma redução no número de células imunes presentes na lâmina própria, visto que, no início da artrite, é observada a migração de células T da lâmina própria para as articulações (Tajik *et al.*, 2020).

Nos grupos suplementados pela cúrcuma, os resultados foram semelhantes aos encontrados nos animais artríticos. Resultados similares foram descritos, em que a administração de curcumina não influenciou o formato e altura dos vilos intestinais (Kumar *et al.*, 2010), e não inibiu os efeitos deletérios causados pelo cádmio na morfometria intestinal, possivelmente, pela forma de administração e a dose ofertada (Tarasub; Tarasub; Ayutthaya, 2009).

De qualquer modo, a alteração encontrada nos vilos, bem como alterações nas células imunes da lâmina própria, independentemente da inflamação intestinal (Johnson *et al.*, 2015), têm implicações para a função de barreira da mucosa intestinal (Guzman; Colin; Jobin, 2013).

Os IELs podem ser modulados por doenças autoimunes, incluindo a AR: estudos mostram tanto a contagem normal (Ferguson; Murray, 1971) quanto aumento dos IELs (Ferguson; Murray, 1971; Chang; Mahadeva; Deere, 2005; Aziz *et al.*, 2010), enquanto a cúrcuma, apesar de possuir propriedade imunomoduladora na mucosa, não provocou efeitos nos IELs (Churchill *et al.*, 2000). Alterações na microbiota também influenciam os IELs (Regner *et al.*, 2018) e o aumento de sua densidade pode ocorrer independentemente de alterações na estrutura intestinal (Kakar *et al.*, 2003). Apesar de células imunes específicas poderem ser influenciadas (Bossolani *et al.*, 2019; Matei *et al.*, 2021), o estudo avaliou a densidade total de IELs e não encontrou alterações entre os grupos experimentais.

O sistema nervoso entérico também pode ser afetado pela AR, com diminuição da densidade dos neurônios entéricos (Bossolani *et al.*, 2019) e redução da área do corpo neuronal, sugerindo um efeito prejudicial induzido pela AR (Zanoni; Bossolani, 2019). Já a cúrcuma, possui efeitos miorelaxantes nas camadas musculares intestinais, independentemente da atividade anti-inflamatória (Aldini *et al.*, 2012). O presente estudo avaliou a população total de neurônios mioentéricos do íleo e não observou diferenças na densidade e na morfometria neuronal em decorrência da artrite ou da suplementação com cúrcuma, similarmente a Souza *et al.* (2011). Embora os neurônios entéricos sejam suscetíveis à inflamação, vários fatores podem modular essa resposta, incluindo as células e mediadores que compõem o microambiente entérico (Vasina *et al.*, 2006). Assim, a manutenção da densidade de linfócitos intraepiteliais, da espessura da túnica muscular e do comprimento e diâmetro intestinais observados no estudo, estão em concordância com os dados obtidos com os neurônios mioentéricos, visto que não indicam acúmulo de células imunes ou alterações na área a ser inervada.

O estudo avaliou a população geral de neurônios mioentéricos do íleo, sendo que a plasticidade neuronal pode ocorrer em subpopulações neuronais (Zanoni; Bossolani, 2019), em células gliais entéricas e no plexo submucoso (Bossolani *et al.*,

2019), o que pode ser investigado para melhor esclarecer a capacidade adaptativa do sistema nervoso entérico e a repercussão na função intestinal. Além disso, pesquisas futuras em relação ao perfil inflamatório das células imunes, com a microbiota intestinal nos modelos de AR, podem fornecer melhores explicações a respeito da fisiopatologia da doença, bem como das aplicações terapêuticas da cúrcuma e sua relação com as células do sistema imune.

7 CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que a AR causou estado de inflamação, comprometendo as funções motoras e nociceptivas no aparelho locomotor, que não foram revertidas pela cúrcuma. Embora não tenham sido detectados efeitos na população mioentérica total, alterações na mucosa intestinal induzidas pela AR e pela cúrcuma inferem que a homeostase intestinal foi influenciada.

REFERÊNCIAS

AHMAD, R. S. HUSSAIN, M. B.; SULTAN, M. T.; ARSHAD, M. S.; WAHEED, M.; SHARIATI, M. A.; PLYGUN, S.; HASHEMPUR, M. H. Biochemistry, safety, pharmacological activities, and clinical applications of turmeric: a mechanistic review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [S.L.], v. 2020, p. 1-14, 2020.

ALCÂNTARA, G.F.T.; SIMÕES-NETO, E.; CRUZ, G. M. P.; NOBRE, M. E. P.; NEVES, K. R. T.; ANDRADE, G. M.; BRITO, G. A. C.; VIANA, G. S. B. Curcumin reverses neurochemical, histological and immunohistochemical alterations in the model of global brain ischemia. **Journal of Tradicional and Complementary Medicine**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 14-23, 2017.

ALDINI, R.; BUDRIESI, R.; RODA, G.; MICUCCI, M.; IOAN, P.; D'ERRICO-GRIGIONI, A.; SARTINI, A.; GUIDETTI, E.; MAROCCHI, M.; CEVENINI, M.; ROSINI, F.; MONTAGNANI, M.; CHARINI, A.; MAZZELLA, G. Curcuma longa extract exerts a myorelaxant effect on the ileum and colon in a mouse experimental colitis model, independent of the anti-inflammatory effect. **Plos One**, [S.L.], v. 7, n. 9, e44650, 2012.

AL-MOUSAWI, Z.A.H.; AL-HAMED, H.A.A.; ALI, S.A. Effect of ethanolic extract of *curcumin* on physiological and biochemical parameters in complete freund's adjuvant induced arthritic rats. **Biochemical and Cellular Archives**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 2537-2543, 2020.

ANAND, P.; KUNNUMAKKARA, A. B.; NEWMAN, R. A.; AGGARWAL, B. B. Bioavailability of Curcumin: problems and promises. **Molecular Pharmaceutics**, [S.L.], v. 4, n. 6, p. 807-818, 2007.

AZEVEDO, A. B. C.; FERAZ, M. B.; CICONELLI, R. M. Indirect costs of rheumatoid arthritis in Brazil. **Value in Health**, [S.L.], v. 11, n. 5, p. 869-877, 2008.

AZIZ, I.; EVANS, K. E.; HOPPER, A. D.; SMILLIE, D. M.; SANDERS, D. S. A prospective study into the aetiology of lymphocytic duodenosis. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, [S.L.], v. 32, n. 11-12, p. 1392-1397, 2010.

BARBOSA, A.J.F. Técnica histológica para gânglios nervosos intramurais em preparados espessos. **Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas**, [S.L.], v. 11, p. 95-97, 1978.

BATISTELLA, V. **Adesão ao tratamento em pacientes com artrite reumatoide**. 2021. Disponível em: https://www.janssenpro.com.br/sites/www.janssenprolatam.com/files/artigo_comentado_-_simponi_janssen.pdf. Acesso em: 13 jun 2022.

BELÉM, M. O.; CIRILO, C. P.; SANTI-RAMPAZZO, A. P.; SCHOFFEN, J. P. F.; COMAR, J. F.; NATALI, M. R. M.; ARAÚJO, E. J. A. Intestinal morphology adjustments caused by dietary restriction improves the nutritional status during the aging process of rats. **Experimental Gerontology**, [S.L.], v. 69, p. 85-93, 2015.

BENDELE, A. M. Animal models of rheumatoid arthritis. **Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions**, [S.L.], v. 1, n.4, p. 377-385, 2001.

BERGSTROM, K. S. B.; GUTTMAN, J. A.; RUMI, M.; MA, C.; BOUZARI, S.; KHAN, M. A.; GIBSON, D. L.; VOGL, A. W.; VALLANCE, B. A. Modulation of intestinal goblet cell function during infection by an attaching and effacing bacterial pathogen. **Infection and Immunity**, [S.L.], v. 76, p. 796-811, 2008.

BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology**, [S.L.], v. 40, n. 4, p. 527-528, 1968.

BERTELLI, J.A., MIRA, J.C. The grasping test: A simple behavioral method assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, [S.L.], v. 58, p. 151–155, 1995.

BHAWANA; BASNIWAL, R. K.; BUTTAR, H. S.; JAIN, V. K.; JAIN, N. Curcumin Nanoparticles: preparation, characterization, and antimicrobial study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.L.], v. 59, n. 5, p. 2056-2061, 2011.

BOMBARDIER, C.; BARBIERI, M.; PARTHAN, A.; ZACK, D. J.; WALKER, V.; MACARIOS, D.; SMOLEN, J. S. The relationship between joint damage and functional disability in rheumatoid arthritis: a systematic review. **Annals of The Rheumatic Diseases**, [S.L.], v. 71, n. 6, p. 836-844, 2011.

BOSSOLANI, G.D.P.; SILVA, B. T.; PERLES, J. V. C. M.; LIMA, M. M.; FREZ, F. C. V.; SOUZA, S. R. G.; SEHABER-SIERAKOWSKI, C. C.; BERSANI-AMADO, C. A.; ZANONI, J. N. Rheumatoid arthritis induces enteric neurodegeneration and jejunal inflammation, and quercetin promotes neuroprotective and anti-inflammatory actions. **Life Sciences**, [S.L.], v. 238, 116956, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Artrite Reumatoide**. 2020. Disponível em: http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2020/20200908_Relatorio_Artrite_Reumatoide_551.pdf. Acesso em: 6 jun 2022.

CALDERARO, D. C.; CORRÊA, J. D.; FERREIRA, G. A.; BARBOSA, I. G.; MARTINS, C. C.; SILVA, T. A.; TEIXEIRA, A. L. Influence of periodontal treatment on rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. **Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition)**, [S.L.], v. 57, n. 3, p. 238-244, 2017.

CARMONA, L.; CROSS, M.; WILLIAMS, B.; LASSERE, M., MARCH, L. Rheumatoid arthritis. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 24, n. 6, p. 733-745, 2010.

CAS, M. D.; GHIDONI, R. Dietary Curcumin: correlation between bioavailability and health potential. **Nutrients**, [S.L.], v. 11, n. 9, p. 2147, 2019.

CHADWICK, V. S.; CHEN, W.; SHU, D.; PAULUS, B.; BETHWAITE, P.; TIE, A.; WILSON, I. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. **Gastroenterology**, [S.L.], v. 122, n. 7, p. 1778-1783, 2002.

CHANDRAN, B; GOEL, A. A randomized, pilot study to assess the efficacy and safety of curcumin in patients with active rheumatoid arthritis. **Phytotherapy Research**, [S.L.], v. 26, n. 11, p. 1719-1725, 2012.

CHANG, F.; MAHADEVA, U.; DEERE, H. Pathological and clinical significance of increased intraepithelial lymphocytes (IELs) in small bowel mucosa. **Apmis**, [S.L.], v. 113, n. 6, p. 385-399, jun. 2005.

CHAPLAN, S. R.; BACH, F. W.; POGREL, J. W.; CHUNG, J. M.; YAKSH, T. L. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **Journal of Neuroscience Methods**, [S.L.], v. 53, n. 1, p. 55-63, 1994.

CHEROUTRE, H.; LAMBOLEZ, F.; MUCIDA, DI. The light and dark sides of intestinal intraepithelial lymphocytes. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 11, n. 7, p. 445-456, 2011.

CHEROUTRE, H. Starting at the Beginning: new perspectives on the biology of mucosal t cells. **Annual Review of Immunology**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 217-246, 2004.

CHOUDHARY, N.; BHATT, L.K.; PRABHAVALKAR, K.S. Experimental animal models for rheumatoid arthritis. **Immunopharmacology and immunotoxicology**, [S.L.], v. 40, n. 3, p. 193-200, 2018.

CHOY, E. Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Rheumatology**, [S.L.], v. 51, p. 3-11, 2012.

CHUENGSAARN, S.; RATTANAMONGKOLGUL, S.; PHONRAT, B.; TUNGTRONGCHITR, R.; JIRAWATNOTAI, S. Reduction of atherogenic risk in patients with type 2 diabetes by curcuminoid extract: a randomized controlled trial. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 144-150, 2014.

CHUENGSAARN, S.; RATTANAMONGKOLGUL, S.; LUECHAPUDIPORN, R.; PHISALAPHONG, C.; JIRAWATNOTAI, S. Curcumin Extract for Prevention of Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, [S.L.], v. 35, n. 11, p. 2121-2127, 2012.

CHURCHILL, M.; CHADBURN, A.; BILINSKI, R. T.; BERTAGNOLLI, M. M. Inhibition of Intestinal Tumors by Curcumin Is Associated with Changes in the Intestinal Immune Cell Profile. **Journal of Surgical Research**, [S.L.], v. 89, n. 2, p. 169-175, abr. 2000

CICCIA, F.; GUGGINO, G.; RIZZO, A.; SAIEVA, L.; PERALTA, S.; GIARDINA, A.; CANNIZZARO, A.; SIRECI, G.; LEO, G.; ALESSANDRO, R.; TRIOLO, G. Type 3 innate lymphoid cells producing IL-17 and IL-22 are expanded in the gut, in the peripheral blood, synovial fluid and bone marrow of patients with ankylosing spondylitis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, [S.L.], v. 74, p. 1739–1747, 2015.

CLARKE, J. Disease onset goes with its gut in RA. **Nature Reviews Rheumatology**, [S.L.], v. 16, n. 7, p. 350, 2020.

COJOCARU, M.; COJOCARU, I. M.; SILOSI, I.; VRABIE, C. D. Gastrointestinal manifestations in systemic autoimmune diseases. **Maedica (Bucur)**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 45-51, 2011.

COLLINS, S. M. The immunomodulation of enteric neuromuscular function: implications for motility and inflammatory disorders. **Gastroenterology**, [S.L.], v. 111, n. 6, p. 1683-1699, 1996.

CROSNIER, C.; STAMATAKI, D.; LEWIS, J. Organizing cell renewal in the intestine: stem cells, signals and combinatorial control. **Nature Reviews Genetics**, [S.L.], v. 7, n. 5, p. 349-359, 2006.

DESESSO, J. M.; JACOBSON, C. F. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. **Food and Chemical Toxicology**, [S.L.], v. 39, p. 209-228, 2001.

DI GIUSEPPE, D.; DISCACCIATI, A.; ORSINI, N.; WOLK, A. Cigarette smoking and risk of rheumatoid arthritis: a dose-response meta-analysis. **Arthritis Research & Therapy**, [S.L.], v. 16, R61, 2014.

EL-HACK, M.A.; EL-SAADONY, M. T.; ASWELUM, A.; ARIF, M.; GHANIMA, M. M. A.; SHUKRY, M.; NORELDIN, A.; TAHA, A. E.; EL-TARABILY, K. Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S.L.], v. 101, n. 14, p. 5747-5762, 2021.

FERGUSON, A.; MURRAY, D. Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human jejunum. **Gut**, [S.L.], v. 12, n. 12, p. 988-994, 1971.

FLAK, M.B.; COLAS, R. A.; MUÑOZ-ATIENZA, E.; CURTIS, M. A.; DALLI, J.; PITZALIS, C. Inflammatory arthritis disrupts gut resolution mechanisms, promoting barrier breakdown by *Porphyromonas gingivalis*. **JCI Insight**, [S.L.], v. 4, n. 13, e125191, 2019.

FUNK, J. L.; FRYE, J. B.; OYARZO, J. N.; ZHANG, H.; TIMMERMAN, B. N. Anti-arthritic effects and toxicity of the essential oils of turmeric (*Curcuma longa* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.L.], v. 58, n. 2, p. 842-849, 2010.

FURNESS, J.B. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, [S.L.], v. 9, p. 286–294 2012.

FURNESS, J.B. **The enteric nervous system**. Blackwell, Oxford, 2006.

GELBERG, H. B. Comparative anatomy, physiology, and mechanisms of disease production of the esophagus, stomach, and small intestine. **Toxicologic Pathology**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 54-66, 2014.

GOMES, R. P.; BRESSAN, E.; SILVA, T. M.; GEVAERD, M. S.; TONUSSI, C. R.; DOMENECH, S. C. Efeitos de um minuto e dez minutos de deambulação em ratos com artrite induzida por adjuvante completo de Freund sobre os sintomas de dor e edema. **Revista Brasileira de Reumatologia**, [S.L.], v. 54, n. 2, p. 83–89, 2014

GOMES, R. P.; BRESSAN, E.; SILVA, T. M.; GEVAERD, M. S.; TONUSSI, C. R.; DOMENECH, S. C. Standardization of an experimental model suitable for studies on the effect of exercise on arthritis. **Einstein**, Sao Paulo, v. 11, n. 1, p. 76-82, 2013.

GONZÁLEZ-CHÁVEZ, S. A.; CHAPARRO-BARRERA, E.; ALVARADO-JÁQUEZ, M. F.; CUEVAS-MARTÍNEZ, R.; OCHOA-ALBÍZTEGUI, R. E.; PACHECO-TENA, C. Complete Freund's Adjuvant induces a fibroblast-like synoviocytes (fls) metabolic and migratory phenotype in resident fibroblasts of the inoculated footpad at the earliest stage of adjuvant-induced arthritis. **Cells**, [S.L.], v. 12, n. 6, p. 842, 2023.

GUZMAN, J. R.; CONLIN, V. S.; JOBIN, C. Diet, Microbiome, and the Intestinal Epithelium: an essential triumvirate?. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2013, p. 1-12, 2013.

HALLING, M. L.; KJELDSEN, J.; KNUDSEN, T.; NIELSEN, J.; HANSEN, L. K. Patients with inflammatory bowel disease have increased risk of autoimmune and inflammatory diseases. **World Journal of Gastroenterology**, [S.L.], v. 23, n. 33, p. 6137-6146, 2017.

HANAI, H.; IIDA, T.; TAKEUCHI, K.; WATANABE, F.; MARUYAMA, Y.; ANDOH, A.; TSUJIKAWA, T.; FUJIYAMA, Y.; MITSUYAMA, K.; SATA, M. Curcumin Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis: randomized, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, [S.L.], v. 4, n. 12, p. 1502-1506, 2006.

HOLERS, V.M.; DEMORUELLE, M. K.; KUHN, K. A.; BUCKNER, J. H.; ROBINSON, W. H.; OKAMOTO, Y.; NORRIS, J. M.; DEANE, K. D. Rheumatoid arthritis and the

mucosal origins hypothesis: protection turns to destruction. **Nature Reviews Rheumatology**, [S.L.], v. 14, n. 9, p. 542-557, 2018.

HOOPER, L. V. Do symbiotic bacteria subvert host immunity? **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 7, n. 5, p. 367-374, 2009.

HORTA-BAAS, G.; ROMERO-FIGUEROA, M. S.; MONTIEL-JARQUÍN, A. J.; PIZANO-ZÁRATE, M. L.; GARCÍA-MENA, J.; RAMÍREZ-DURÁN, N. Intestinal dysbiosis and rheumatoid arthritis: a link between gut microbiota and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Journal of Immunology Research**, [S.L.], v. 2017, 4835189, 2017.

HUANG, W.; CHIU, W.; CHUANG, H.; TANG, D.; LEE, Z.; WEI, L.; CHEN, F.; HUANG, C. Effect of Curcumin Supplementation on Physiological Fatigue and Physical Performance in Mice. **Nutrients**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 905-921, 2015.

JACOBSON, A.; YANG, D.; VELLA, M.; CHIU, I. M. The intestinal neuro-immune axis: crosstalk between neurons, immune cells, and microbes. **Mucosal Immunology**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 555-565, 2021.

JENNINGS, M. R.; PARKS, R. J. Curcumin as an antiviral agent. **Viruses**, v. 12, n. 11, 1242, 2020.

JOHNSON, A. M. F.; COSTANZO, A.; GAREAU, M. G.; ARMANDO, A. M.; QUEHENBERGER, O.; JAMESON, J. M.; OLEFSKY, Jerrold M. High Fat Diet Causes Depletion of Intestinal Eosinophils Associated with Intestinal Permeability. **Plos One**, [S.L.], v. 10, n. 4, e0122195, 2015.

JUBAIR, W.K.; HENDRICKSON, J. D.; SEVERS, E. L.; SCHULZ, H. M.; ADHIKARI, S.; IR, D.; PAGAN, J. D.; ANTHONY, R. M.; ROBERTSON, C. E.; FRANK, D. N.; BANDA, N. K.; KUHN, K. A. Modulation of inflammatory arthritis in mice by gut microbiota through mucosal inflammation and autoantibody generation. **Arthritis & Rheumatology**, [S.L.], v. 70, n. 8, p. 1220-1233, 2018.

JUNQUEIRA, L. C.; JUNQUEIRA, L. M. M. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos, 1983.

KAKAR, S.; NEHRA, V.; MURRAY, J. A.; DAYHARSH, G. A.; BURGART, L. J. Significance of intraepithelial lymphocytosis in small bowel biopsy samples with normal mucosal architecture. **The American Journal of Gastroenterology**, [S.L.], v. 98, n. 9, p. 2027-2033, 2003.

KIELA, P.R.; GHISHAN, F.K. Physiology of intestinal absorption and secretion. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, [S.L.], v. 30, p. 145-159, 2016.

KIM, J.; KHAN, W. Goblet cells and mucins: role in innate defense in enteric infections. **Pathogens**, [S.L.], v. 2, p. 55-70, 2013.

KIM, Y.S.; HO, S.B. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. **Current Gastroenterology Reports**, [S.L.], v. 12, p. 319-330, 2010.

KOCAADAM, B; ŞANLIER, N. Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health. **Critical Reviews in Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 57, n. 13, p. 2889-2895, 2015.

KOTHA, R. R.; LUTHRIA, D. L. Curcumin: biological, pharmaceutical, nutraceutical, and analytical aspects. **Molecules**, [S.L.], v. 24, n. 16, p. 2930-2957, 2019.

KRÖNER, P. T.; TOLAYMAT, O. A.; BOWMAN, A. W.; ABRIL, A.; LACY, B. E. Gastrointestinal manifestations of rheumatological diseases. **American Journal of Gastroenterology**, [S.L.], v. 114, n. 9, p. 1441-1454, 2019.

KUHN, K. A.; SCHULZ, H. M.; REGNER, E. H.; SEVERS, E. L.; HENDRICKSON, J. D.; MEHTA, G.; WHITNEY, A. K.; IR, D.; OHRI, N.; ROBERTSON, C. E.; FRANK, D. N.; CAMPBELL, E. L.; COLGAN, S. P. Bacteroidales recruit IL-6-producing intraepithelial lymphocytes in the colon to promote barrier integrity. **Mucosal Immunology**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 357-368, 2018.

KUMAR, A.; PURWAR, B.; SHRIVASTAVA, A.; PANDEY, S. Effects of curcumin on the intestinal motility of albino rats. **Indian Journal of Physiology Pharmacology**, [S.L.], v. 54, n. 3, p. 284-288, 2010.

LANAS, A.; SOPEÑA, F. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and lower gastrointestinal complications. **Gastroenterology Clinics of North America**, [S.L.], v. 38, n. 2, p. 333-352, 2009.

LOPRESTI, A.L. Potential role of curcumin for the treatment of major depressive disorder. **CNS Drugs**, [S.L.], v. 36, n. 2, p. 123-141, 2022.

MADIHA, S.; HAIDER, S. Curcumin restores rotenone induced depressive-like symptoms in animal model of neurotoxicity: assessment by social interaction test and sucrose preference test. **Metabolic Brain Disease**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 297-308, 2019.

MAHADEVAN, V. Anatomy of the small intestine. **Surgery (Oxford)**, [S.L.], v. 38, n. 6, p. 283-288, 2020.

MAIDEN, L.; THJODLEIFSSON, B.; SEIGAL, A.; BJARNASON, I. I.; SCOTT, D.; BIRGISSON, S.; BJARNASON, I. Long-term effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 selective agents on the small bowel: a cross-sectional capsule enteroscopy study. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, [S.L.], v. 5, n. 9, p. 1040-1045, 2007.

MARESE, A. C. M.; FREITAS, P.; NATALI, M. R. M. Alterations of the number and the profile of myenteric neurons of Wistar rats promoted by age. **Autonomic Neuroscience**, [S.L.], v. 137, n. 1-2, p. 10-18, 2007.

MARCUCCI, E. BARTOLONI, E.; ALUNNO, A.; LEONE, M. C.; CAFARO, G.; LUCCIOLI, F.; VALENTINI, V.; VALENTINI, E.; LA PAGLIA, G. M. C.; BONIFACIO, A. F.; GERLI, R. Extra-articular rheumatoid arthritis. **Reumatismo**, [S.L.], v. 70, n. 4, p. 212-224, 2018.

MATEI, D.E.; MENON, M.; ALBER, D. G.; SMITH, A.M.; NEDJAT-SHOKOUHI, B.; FASANO, A.; MAGILL, L.; DUHLIN, A.; BITOUN, S.; GLEIZES, A.; HACEIN-BEY-ALBINA, S.; MANSON, J. J.; ROSSER, E. C.; CONSORTIUM, A.; KLEIN, N.; BLAIR, P. A.; MAURI, C. Intestinal barrier dysfunction plays an integral role in arthritis pathology and can be targeted to ameliorate disease. **Med (N Y)**, [S.L.], v. 2, n. 7, p. 864-883, 2021.

MEMARZIA, A.; KHAZDAIR, M.R.; BEHROUZ, S.; GHOLAMNEZHAD, Z.; JAFARNEZHAD, M.; SAADAT, S.; BOSKABADY, M. H. Experimental and clinical reports on anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of Curcuma longa and curcumin, an updated and comprehensive review. **Biofactors**, [S.L.], v. 47, n. 3, p. 311-350, 2021.

MESHKIBAF, M.H.; MALEKNIA, M.; NOROOZI, S. Effect of curcumin on gene expression and protein level of methionine sulfoxide reductase A (MSRA), SOD, CAT and GPx in Freund's adjuvant inflammation-induced male rats. **Journal of Inflammation Research**, [S.L.], v. 3, n. 12, p. 241–249, 2019.

MILLAR, K.; LLOYD, S. M.; MCLEAN, J. S.; BATTY, G. D.; BURNS, H.; CAVANAGH, J.; DEANS, K. A.; FORD, I.; MCCONNACHIE, A.; MCGINTY, A. Personality, Socio-Economic Status and Inflammation: cross-sectional, population-based study. **Plos One**, [S.L.], v. 8, n. 3, e58256, 2013.

MIRANDA-NETO, M. H.; MOLINARI, S. L.; NATALI, M. R. M.; SANT'ANA, D. M. G. Regional differences in the number and type of myenteric neurons of the ileum of rats: a comparison of techniques of the neuronal evidentiatio. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, [S.L.], v. 59, n. 1, p. 54-59, 2001.

MOTA, L. M.; LAURINDO, I. M.; SANTOS NETO, L. L. Demographic and clinical characteristics of a cohort of patients with early rheumatoid arthritis. **Revista Brasileira de Reumatologia**, [S.L.], v. 50, n. 3, p. 235-248, 2010.

NAKAGAWA, Y.; MUKAI, S.; YAMADA, S.; MATSUOKA, M.; TARUMI, E.; HASHIMOTO, T.; TAMURA, C.; IMAIZUMI, A.; NISHIHARA, J.; NAKAMURA, T. Short-term effects of highly-bioavailable curcumin for treating knee osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled prospective study. **Journal of Orthopaedic Science**, [S.L.], v. 19, n. 6, p. 933-939, 2014.

NEGRONI, A.; CUCCHIARA, S.; STRONATI, L. Apoptosis, Necrosis, and

Necroptosis in the Gut and Intestinal Homeostasis. **Mediators of Inflammation**, [S.L.], v. 2015, p. 1-10, 2015.

NEUNLIST, M.; VAN LANDEGHEM, L.; MAHÉ, M. M.; DERKINDEREN, P.; VARANNES, S. B. D.; ROLLI-DERKINDEREN, M. The digestive neuronal–glial–epithelial unit: a new actor in gut health and disease. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 90-100, 2012.

NHS. **NSAIDs**. Disponível em: <https://www.nhs.uk/conditions/nsaids/>. Acesso em: 8 set 2022.

NIESLER, B.; KUERTEN, S.; DEMIR, I. E.; SCHÄFER, K. Disorders of the enteric nervous system — a holistic view. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, [S.L.], v. 18, n. 6, p. 393-410, 2021.

NOH, A. S. M.; CHUAN, T. D.; KHIR, N. A. M.; ZIN, A. A. M.; GHAZALI, A. K.; LONG, I.; AZIZ, C. B. A.; ISMAIL, C. A. N. Effects of different doses of complete Freund's adjuvant on nociceptive behaviour and inflammatory parameters in polyarthritic rat model mimicking rheumatoid arthritis. **PLoS ONE**, [S.L.], v. 16, n. 12, e0260423, 2021.

NONOSE, N.; PEREIRA, J. A.; MACHADO, P. R. M.; RODRIGUES, M. R.; SATO, D. T.; MARTINEZ, C. A. R. Oral administration of curcumin (*Curcuma longa*) can attenuate the neutrophil inflammatory response in zymosan-induced arthritis in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, [S.L.], v. 29, n. 11, p. 727-734, 2014.

PANAHI, Y.; RAHIMNIA, A.; SHARAFI, M.; ALISHIRI, G.; SABURI, A.; SAHEBKAR, A. Curcuminoid treatment for knee osteoarthritis: a randomized double-blind placebo-controlled trial. **Phytotherapy Research**, [S.L.], v. 28, n. 11, p. 1625-1631, 2014.

PINSORNSAK, P.; NIEMPOOG, S. The efficacy of *Curcuma Longa* L. extract as an adjuvant therapy in primary knee osteoarthritis: a randomized control trial. **Journal of the Medical Association of Thailand**, [S.L.], v. 1, S51–S58, 2012.

PORTINCASA, P.; BONFRATE, L.; KHALIL, M.; ANGELIS, M.; CALABRESE, F. M.; D'AMATO, M.; WANG, D. Q.-H.; CIAULA, A. Intestinal Barrier and Permeability in Health, Obesity and NAFLD. **Biomedicines**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 83, 2022.

QIU, Y.; YANG, H. Effects of Intraepithelial Lymphocyte-Derived Cytokines on Intestinal Mucosal Barrier Function. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, [S.L.], v. 33, n. 10, p. 551-562, 2013.

RAHIMNIA, A.-R.; PANAH, Y.; ALISHIRI, G.; SHARAFI, M.; SAHEBKAR, A. Impact of supplementation with curcuminoids on systemic inflammation in patients with knee osteoarthritis: findings from a randomized double-blind placebo-controlled trial. **Drug Research**, [S.L.], v. 65, n. 10, p. 521-525, 2015.

RAMADAN, G.; AL-KAHTANI, M. A.; EL-SAYED, W. M. Anti-inflammatory and anti-oxidant properties of *Curcuma longa* (Turmeric) versus *Zingiber officinale* (Ginger) Rhizomes in Rat Adjuvant-Induced Arthritis. **Inflammation**, [S.L.], v. 34, n. 4, p. 291-301, 2010.

REDA, F.M.; EL-SAADONY, M. T.; ELNESR, S. S.; ALAGAWANY, M.; TUFARELLI, V. Effect of dietary supplementation of biological curcumin nanoparticles on growth and carcass traits, antioxidant status, immunity and caecal microbiota of japanese quails. **Animals** (Basel), [S.L.], v. 10, n. 5, 754, 2020.

REED, K. K.; WICKHAM, R. Review of the Gastrointestinal Tract: from macro to micro. **Seminars in Oncology Nursing**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 3-14, 2009.

REGNER, E. H.; OHRI, N.; STAHL, A.; GERICH, M. E.; FENNIMORE, B. P.; IR, D.; JUBAIR, W. K.; GÖRG, C.; SIEBERT, J.; ROBERTSON, C. E.; CAPLAN, L.; FRANK, D. N.; KUHN, K. A. Functional intraepithelial lymphocyte changes in inflammatory bowel disease and spondyloarthritis have disease specific correlations with intestinal microbiota. **Arthritis Research & Therapy**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 1-1, 2018.

RIBEIRO, A. A.; CUNHA, M.; MONTEIRO, P.; NUNES, D.; RODRIGUES, R.; ASSIS, C.; HENRIQUES, M. A. Determinantes psicológicos da qualidade-de-vida em pessoas com artrite reumatóide. **Acta Paulista de Enfermagem**, [S.L.], v. 35, eAPE0384345, 2022.

RIBEIRO, A.; NUNES, D.; CLEMENTE, L.; MONTEIRO, M.; MOTA, M.; HENRIQUES, M.; CUNHA, M. A autonomia funcional como determinante da qualidade de vida em pessoas com artrite reumatóide. **Revista de Enfermagem Referência**, [S.L.], v. V, n. 7, e20171, 2021.

RINKUNAITE, I.; SIMOLIUNAS, E.; ALKSNE, M.; DAPKUTE, D.; BUKELSKIENE, V. Anti-inflammatory effect of different curcumin preparations on adjuvant-induced arthritis in rats. **Bmc Complementary Medicine and Therapies**, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 1-12, 2021.

RÜHL, A.; BEREZIN, I.; COLLINS, S. M. Involvement of eicosanoids and macrophage-like cells in cytokine-mediated changes in rat myenteric nerves. **Gastroenterology**, [S.L.], v. 109, n. 6, p. 1852-1862, 1995.

SAHIN, E.; ORHAN, C.; ERTEN, F.; ER, B.; ACHARYA, M.; MORDE, A. A.; PADIGARU, M.; SAHIN, K. Next-Generation Ultrasol Curcumin Boosts Muscle Endurance and Reduces Muscle Damage in Treadmill-Exhausted Rats. **Antioxidants**, [S.L.], v. 10, n. 11, p. 1692, 2021.

SANTANA, F. S.; NASCIMENTO, D. C.; FREITAS, J. P. M.; MIRANDA, R. F.; MUNIZ, L. F.; SANTOS NETO, L.; MOTA, L. M. H.; BALSAMO, S. Avaliação da capacidade funcional em pacientes com artrite reumatoide: implicações para a recomendação de exercícios físicos. **Revista Brasileira de Reumatologia**, [S.L.], v. 54, n. 5, p. 378-385, 2014.

SAYANI, F. A.; KEENAN, C. M.; VAN SICKLE, M. D.; AMUNDSON, K. R.; PARR, E. J.; MATHISON, R. D.; MACNAUGHTON, W. K.; BRAUN, J. E. A.; SHARKEY, K. A. The expression and role of Fas ligand in intestinal inflammation. **Neurogastroenterology & Motility**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 61-74, 2004.

SBR. Sociedade Brasileira de Reumatologia. **Artrite Reumatoide**. 2021. Disponível em: <https://www.reumatologia.org.br/doencas-reumaticas/artrite-reumatoide/>. Acesso em: 6 jun 2022.

SCHERER, H. U.; HÄUPL, T.; BURMESTER, G. R. The etiology of rheumatoid arthritis. **Journal of Autoimmunity**, [S.L.], v. 110, 102400, 2020.

SHAHRESTANI, J.; DAS J. M. **Neuroanatomy, Auerbach Plexus**. [Updated 2023 May 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551559/>.

SHARKEY, K. A.; MAWE, G. M. The enteric nervous system. **Physiological Reviews**, [S.L.], v. 103, n. 2, p. 1487-1564, 2023.

SHARMA, R.; SCHUMACHER, U.; RONAASEN, V.; COATES, M. Rat intestinal mucosal responses to a microbial flora and different diets. **Gut**, [S.L.], v. 36, n. 2, 209-214, 1995

SHAW, D.; GOHIL, K.; BASSON, M.D. Intestinal mucosal atrophy and adaptation. **World Journal of Gastroenterology**, [S.L.], v. 18, n. 44, p. 6357-6375, 2012.

SINHA, M.; GAUTAM, L.; SHUKLA, P. K.; KAUR, P.; SHARMA, S.; SINGH, T. P. Current perspectives in NSAID-induced gastropathy. **Mediators of Inflammation**, [S.L.], v. 2013, 258209, 2013.

SILVA, J.L.G.; PASSOS, D. F.; BERNARDES, V. M.; CABRAL, F. L.; SCHIMITES, P. G.; MANZONI, A. G.; OLIVEIRA, E. G.; SILVA, C. B.; BECK, R. C. R.; JANTSCH, M. H.; MACIEL, R. M.; LEAL, D. B. R. Co-nanoencapsulation of vitamin D3 and curcumin regulates inflammation and purine metabolism in a model of Arthritis. **Inflammation**, [S.L.], v. 42, n. 5, p. 1595-1610, 2019.

SIVALINGAM, N.; HANUMANTHARAYA, R.; FAITH, M.; BASIVIREDDY, J.; BALASUBRAMANIAN, K. A.; JACOB, M. Curcumin reduces indomethacin-induced damage in the rat small intestine. **Journal of Applied Toxicology**, [S.L.], v. 27, n. 6, p. 551-560, 2007.

SMOLEN, J. S.; ALETAHA, D.; KOELLER, M.; WEISMAN, M. H.; EMERY, P. New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. **The Lancet**, [S.L.], v. 370, n. 9602, p. 1861-1874, 2007.

SMOLEN, J. S.; ALETAHA, D.; MCINNES, I. B. Rheumatoid arthritis. **The Lancet**, [S.L.], v. 388, n. 10055, p. 2023-2038, 2016.

SMOLEN, J.S.; STEINER, G. Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. **Natural Reviews Drug Discovery**, v. 2, n. 6, p. 473-488, 2003.

SNEKHALATHA, U.; ANBURAJAN, M.; VENKATRAMAN, B.; MENAKA, M. Evaluation of complete Freund's adjuvant-induced arthritis in a Wistar rat model. **Zeitschrift Für Rheumatologie**, [S.L.], v. 72, n. 4, p. 375-382, 2012.

SOARES, A.; BERALDI, E. J.; FERREIRA, P. E. B.; BAZOTTE, R. B.; BUTTOW, N. C. Intestinal and neuronal myenteric adaptations in the small intestine induced by a high-fat diet in mice. **Bmc Gastroenterology**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1-9, 2015.

SOMASUNDARAM, S. Therapeutic Effect of Curcumin Supplementation in the Modulation of NF- κ B Responsive Genes in a Collagen-induced Arthritis Rat Model. **British Journal of Medicine and Medical Research**, [S.L.], v. 4, n. 15, p. 2940-2954, 2014.

SOUZA, I. D. S.; RIBEIRO, J. S.; BERSANI-AMADO, C. A.; ZANONI, J. N. Analysis of myosin-V immunoreactive myenteric neurons from arthritic rats. **Arquivos de Gastroenterologia**, [S.L.], v. 48, n. 3, p. 205-210, 2011.

SPECIAN, R.D.; OLIVER, M.G. Functional biology of intestinal goblet cells. **American Journal of Physiology**, v. 260, C183-C193, 1991.

STEEGENGA, W. T.; WIT, Nicole J.; BOEKSCHOTEN, M. V.; IJSSENNAGGER, N.; LUTE, C.; KESHTKAR, S.; BROMHAAR, M. M. G.; KAMPMAN, E.; GROOT, L. C.; MULLER, M. Structural, functional and molecular analysis of the effects of aging in the small intestine and colon of C57BL/6J mice. **Bmc Medical Genomics**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1-14, 2012.

SUGIYAMA, D.; NISHIMURA, K.; TAMAKI, K.; TSUJI, G.; NAKAZAWA, T.; MORINOBU, A.; KUMAGAI, S. Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. **Annals of Rheumatic Diseases**, [S.L.], v. 69, n. 1, p. 70-81, 2010.

SVISTUNOV, A. A.; OSADCHUK, M. A.; KIREEVA, N. V.; HUDAROVA, A. A.; ACHKASOV, E. E. NSAID-induced enteropathy: the current state of the problem. **Terapevticheskii Arkhiv**, [S.L.], v. 90, n. 8, p. 95-100, 2018.

TACHECÍ, I.; BRADNA, P.; DOUDA, T.; BAŁTECKÁ, D.; KOPÁČOVÁ, M.; REJCHRT, S.; LUTONSKÝ, M.; SOUKUP, T.; BUREŁ, J. Small intestinal injury in NSAID users suffering from rheumatoid arthritis or osteoarthritis. **Rheumatology International**, [S.L.], v. 36, p. 1557–1561, 2016.

TAJIK, N.; FRECH, M.; SCHULZ, O.; SCHÄLTER, F.; LUCAS, S.; AZIZOV, V.; DÜRHOŁZ, K.; STEFFEN, F.; OMATA, Y.; RINGS, A.; BERTOĞ, M.; RIZZO, A.;

ILJAZOVIC, A.; BASIC, M.; KLEYER, A.; CULEMANN, S.; KRÖNKE, G.; LUO, Y.; ÜBERLA, K.; GAUPL, U. S.; FREY, B.; STROWIG, T.; SARTER, K.; BISCHOFF, S. C.; WIRTZ, S.; CAÑETE, J. D.; CICCIA, F.; SCHETT, G.; ZAISS, M. M. Targeting zonulin and intestinal epithelial barrier function to prevent onset of arthritis. **Nature Communications**, [S.L.], v. 11, n. 1995, p. 1-14, 2020.

TARASUB, N.; TARASUB, C.; AYUTTHAYA, W. D. N. Histological changes of spleen, stomach and small intestine induced by cadmium in rats and the protective effect of curcumin. **Thammasat Medical Journal**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 213-224, 2009.

TOUMI, F.; NEUNLIST, M.; CASSAGNAU, E.; PAROIS, S.; LABOISSE, C. L.; GALMICHE, J.-P.; JARRY, A. Human submucosal neurones regulate intestinal epithelial cell proliferation: evidence from a novel co-culture model. **Neurogastroenterology and Motility**, [S.L.], v. 15, n. 3, p. 239-242, 2003.

TSUDA, T. Curcumin as a functional food-derived factor: degradation products, metabolites, bioactivity, and future perspectives. **Food & Function**, [S.L.], v. 9, p. 705-714, 2018.

VALLANCE, B. A.; GALEAZZI, F.; COLLINS, S. M.; SNIDER, D. P. CD4 T cells and major histocompatibility complex class II expression influence worm expulsion and increased intestinal muscle contraction during *Trichinella spiralis* infection. **Infection and Immunity**, [S.L.], v. 67, n. 11, p. 6090-6097, 1999.

VASINA, V.; BARBARA, G.; TALAMONTI, L.; STANGHELLINI, V.; CORINALDESI, R.; TONINI, M.; PONTI, F.; GIORGIO, R. Enteric neuroplasticity evoked by inflammation. **Autonomic Neuroscience**, [S.L.], v. 126-127, p. 264-272, 2006.

VERMA, R. K.; KUMARI, P.; MAURYA, R. K.; KUMAR, V.; VERMA, R. B.; SINGH, R. K. Medicinal properties of turmeric (*Curcuma longa* L.): A review. **International Journal of Chemical Studies**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 1354-1357, 2018.

VERSTAPPEN, S. M.; ALBADA-KUIPERS, G. A.; KIJLSMA, J. W. J.; BLAAUW, A. A. M.; SCHENK, Y.; HAANEN, H. C. M.; JACOBS, J. W. G. A good response to early DMARD treatment of patients with rheumatoid arthritis in the first year predicts remission during follow up. **Annals of the Rheumatic Diseases**, [S.L.], v. 64, n. 1, p. 38-43, 2005.

VOLK, N.; LACY, B. Anatomy and physiology of the small bowel. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America**, [S.L.], v. 27, p. 1-13, 2017.

WANG, R.; LI, Y. H.; XU, Y.; LI, Y. B.; WU, H. L.; GUO, H.; ZHANG, J. Z.; ZHANG, J. J.; PAN, X. Y.; LI, X. J. Curcumin produces neuroprotective effects via activating brain-derived neurotrophic factor/TrkB-dependent MAPK and PI-3K cascades in rodent cortical neurons. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 147-153, 2010.

WANG, Q.; YE, C.; SUN, S.; LI, R.; SHI, X.; WANG, S.; ZENG, X.; KUANG, N.; LIU, Y.; SHI, Q.; LIU, R. Curcumin attenuates collagen-induced rat arthritis via anti-inflammatory and apoptotic effects. **International Immunopharmacology**, [S.L.], v. 72 p. 292–300, 2019.

YOO, B. B.; MAZMANIAN, S. K. The Enteric Network: interactions between the immune and nervous systems of the gut. **Immunity**, [S.L.], v. 46, n. 6, p. 910-926, 2017.

YOUNG, N. A.; BRUSS, M. S.; GARDNER, M.; WILLIS, W. L.; MO, X.; VALIENTE, G. R.; CAO, Y.; LIU, Z.; JARJOUR, W. N.; WU, Lai-Chu. Oral Administration of Nano-Emulsion Curcumin in Mice Suppresses Inflammatory-Induced NFkB Signaling and Macrophage Migration. **Plos One**, [S.L.], v. 9, n. 11, e111559, 2014.

ZAISS, M. M. The gut-joint axis in rheumatoid arthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, [S.L.], v. 17, p. 224-237, 2021.

ZANONI, J. N.; BOSSOLANI, G. D. Does the rheumatoid arthritis affect the enteric nervous system?. **Arquivos de Gastroenterologia**, [S.L.], v. 56, n. 2, p. 113-117, 2019.

ZHANG, Z.; LEONG, D. J.; XU, L.; HE, Z.; WANG, A.; NAVATI, M.; KIM, S. J.; HIRSH, D. M.; HARDIN, J. A.; COBELLI, N. J.; FRIEDMAN, J. M.; SUN, H. B. Curcumin slows osteoarthritis progression and relieves osteoarthritis-associated pain symptoms in a post-traumatic osteoarthritis mouse model. **Arthritis Research & Therapy**, [S.L.], v. 18, n. 128, p. 1-12, 2016.

ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, [S.L.], v. 16, p. 109-110, 1983.

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Autorização

O Protocolo nº 13-22 intitulado “**Artrite reumatóide: um estudo comparativo da ação de exercícios aeróbios e anaeróbios e a suplementação com cúrcuma em ratos Wistar**”, sob a responsabilidade de **Gladson Ricardo Flor Bertolini** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata*, para fins de pesquisa científica encontra-se **Aprovado** para execução, está de acordo com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do UNIOESTE em reunião de 05/08/2022. Essa Autorização não substitui o Certificado Experimental de realização ética da pesquisa, necessitando do encaminhamento do Relatório Final de execução do Projeto para sua emissão.

FINALIDADE	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/09/2022 - 13/03/2026
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico/ <i>Wistar</i>
N. de animais	147
Peso/Idade	250 – 350 g/ 2 e 4 meses
Sexo	Masculino
Origem	Biotério Central da UNIOESTE, campus de Cascavel.

Cascavel, 08/08/2022.

Prof. Dra. Luciana Oliveira de Fariña
Coordenadora do CEUA
Portaria nº 3126/2018-GRE