



Universidade Federal do Maranhão

**Agência de Inovação, Empreendedorismo, Pesquisa, Pós-
Graduação e Internacionalização**

Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto

Mestrado Acadêmico



**EFEITOS DO ÓLEO DE COPAÍBA NO CONTROLE DA
DOR VISCERAL E SEU EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO
EM MODELO EXPERIMENTAL DE CISTITE.**

RAFAEL ANTONIO FREIRE CARVALHO

São Luís

2024

RAFAEL ANTONIO FREIRE CARVALHO

**EFEITOS DO ÓLEO DE COPAÍBA NO CONTROLE DA DOR VISCERAL E
SEU EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO EM MODELO EXPERIMENTAL DE
CISTITE.**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Saúde do Adulto da
Universidade Federal do Maranhão para
obtenção do título de Mestre em Saúde do
Adulto.

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes
Coordenador: Prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade

São Luís
2024

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Carvalho, Rafael Antonio Freire.

EFEITOS DO ÓLEO DE COPAÍBA NO CONTROLE DA DOR VISCERAL
E SEU EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO EM MODELO EXPERIMENTAL DE
CISTITE / Rafael Antonio Freire Carvalho. - 2024.
63 f.

Orientador(a): Maria do Socorro de Sousa Cartagenes.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
Ufma, 2024.

1. Oleo de Copaíba. 2. Cistite Intersticial. 3. Von
Frey. 4. Ciclofosfamida. 5. Escala Grimace. I.
Cartagenes, Maria do Socorro de Sousa. II. Título.

RAFAEL ANTONIO FREIRE CARVALHO

**EFEITOS DO ÓLEO DE COPAÍBA NO CONTROLE DE
DOR VISCERAL E SEU EFEITO ANTINFLAMATÓRIO EM MODELO
EXPERIMENTAL DE CISTITE.**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Saúde do Adulto da
Universidade Federal do Maranhão para
obtenção do título de Mestre em Saúde do
Adulto.

A Banca Examinadora da Defesa da Dissertação de Mestrado apresentada em sessão
pública, considerou o candidato aprovado em: 17 / 09 / 2024.

Prof. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes/ UFMA – Orientadora (Presidente) –
PPGSAD

Prof. Dra. Halinna Larissa Cruz Correia De Carvalho Buonocore/ UFMA -
Examinadora externa ao programa

Prof. Dr. Joao Victor Leal Salgado/ UFMA – Examinador externo ao programa

Prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade/ UFMA - Examinador PPGSAD

Prof. Dr. Orlando José dos Santos/ UFMA – Examinador externo ao programa
(suplente)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Expedito Silva Carvalho e Maria Tereza Freire Carvalho, meus grandes exemplos de vida. Como pessoas, ajudaram a moldar meu caráter e minha personalidade com seus exemplos, suas conversas e com seu amor. Como profissionais segui como médico dedicado, responsável e cuidadoso como meu pai e como professor, pesquisador e criativo como minha mãe. Sou a pessoa e o profissional de hoje graças ao exemplo, incentivo e condições que vocês me proporcionaram e não consigo expor em palavras o orgulho e a felicidade em dizer que sou filho de vocês.

Aos meus avós Antônio Fernandes de Carvalho, Rosilda Fernandes de Carvalho, Ruy Velloso Freire e Maria do Carmo Velloso Freire pelo amor carinho e exemplo de vida que serviram como inspiração e norte.

À minha esposa Taciana Gabrielle Pinheiro de Moura Carvalho, pelo incentivo incondicional. Por me fazer querer ser um profissional, pai, marido e um homem melhor a cada dia e momento. Pela dedicação, ajuda e companheirismo e por ser o amor da minha vida.

Aos meus filhos Giovana Pinheiro de Moura Carvalho e Pedro Pinheiro de Moura Carvalho que alegrem meus dias, me dão alma nova e renovam minhas forças e minhas energias para seguir em frente.

Dedico a vocês essa conquista.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em meu coração, em todas as pessoas ao meu redor e guiando todos os meus passos durante toda a minha vida e em especial nos últimos anos. Cada passo a frente que dou, sei que não é por meu mérito, mas somente por sua Graça. Que eu consiga me aproximar cada dia mais do Senhor e que Nossa Senhora abençoe essa caminhada para conseguir ajudar a servir ainda mais com meu coração.

À minha família, que passaram por todo esse processo comigo, que tiveram compreensão das horas ausentes e pelo esforço para me fazer ir adiante.

À minha orientadora, Professora Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes, pelo acolhimento, apoio, orientação e toda ajuda neste trabalho e no incentivo constante. Por abrir as portas do laboratório e por me apresentar novamente o amor pela pesquisa.

Ao Professor Dr. Marcelo Souza de Andrade, pela confiança e por todos os ensinamentos durante as disciplinas e em todo o curso do mestrado.

À grande amiga, professora Tereza Cristina Monteiro de Melo Prazeres, pela amizade e grande parceria durante cada fase do desenvolvimento deste trabalho. Pelo incentivo e por me apresentar à professora Socorro. Talvez não estivesse aqui se não fosse por esse movimento inicial.

À Professora Dra. Joicy Cortez De Sa Sousa, pela paciência e análise histológica.

Aos acadêmicos, pós-graduandos e todos do Laboratório Experimental para Estudos em Dor da UFMA (LEED), em especial á acadêmica de Medicina Isabella Barreto Froz e ao agora Biólogo Rafael Lima pelas incontáveis horas de experimentos, conversas, análises e ajuda e a todos os demais amigos que tiveram participação no trabalho, sintam-se representados.

A todos os professores do programa, pelo compartilhamento do seu conhecimento, ajuda nas dúvidas com o trabalho e preocupação com meu aprendizado durante todo o mestrado.

Aos colegas e amigos da turma 22 do Programa de Mestrado em Saúde do Adulto,
por todo o conhecimento, mas também dúvidas, angústias e alegrias compartilhados.

A todos que direta ou indiretamente, fizeram parte dessa jornada mas que não foram citados, agradeço de coração. Meu muito obrigado!

“Não acumuleis para vós outros tesouros sobre a terra, onde a traça e a ferrugem corroem e onde ladrões escavam e roubam; mas ajuntai para vós outros tesouros no céu, onde traça nem ferrugem corrói, e onde ladrões não escavam, nem roubam; porque, onde está o teu tesouro, aí estará também o teu coração”
(Mateus 6.19-21)

“É justo que muito custe aquilo que muito vale”
(Santa Tereza D’Ávila)

RESUMO

Introdução: A cistite intersticial (CI) é caracterizada por dor pélvica e processo inflamatório crônico, sintomas urinários irritativos por mais de 6 semanas e possui baixa eficácia com tratamentos atuais. A dificuldade técnica e ética no estudo em humanos, levou ao desenvolvimento de modelos experimentais para avaliação de possíveis novos tratamentos. O óleo de copaíba (OC) é conhecido por suas propriedades anti-inflamatórias e tem sido utilizado tradicionalmente para o tratamento de inflamações e dores, contudo, sua potencial aplicabilidade na CI é desconhecida. **Objetivo:** Avaliar os efeitos anti-inflamatórios e analgésicos do óleo de copaíba em modelo de cistite em ratos. **Métodos:** Sessenta ratos foram divididos em seis grupos: salina sadio(sem indução da CI e tratado com salina 0,9%), salina induzido (indução da CI e tratado com salina 0,9%) e meloxicam (controle positivo) e três grupos tratados com diferentes concentrações de óleo de copaíba (50mg/kg, 100mg/kg e 200mg/kg). O modelo de cistite foi induzido pela administração de ciclofosfamida intraperitoneal. A resposta inflamatória foi avaliada pela contagem absoluta de mastócitos e avaliação histológica da bexiga. A alodínia mecânica foi medida pelo teste de Von Frey, enquanto a dor foi avaliada pela escala Grimace. A análise estatística foi feita pela análise de variância univariada (One-way ANOVA), seguida pelo teste de Tukey. **Resultados:** Os grupos tratados com OC mostraram uma resposta positiva, com redução progressiva das alterações histológicas conforme a aumento da dose. No grupo 200mg/kg, foi visto uma quase completa normalização das amostras, com discreta congestão circulatória, sem infiltração inflamatória significativa (p 0,0327 em relação ao salina induzido). Todos os grupos tratados com OC apresentaram uma redução significativa na contagem de mastócitos em comparação ao grupo salina induzido, especialmente na concentração de 200mg/kg (p: 0,007). No teste de Von Frey, os grupos tratados com o OC, não obtiveram resultados estatisticamente significantes, porém, com uma tendência de redução em comparação ao grupo salina induzido no grupo de 200mg/kg (p: 0,068). Na escala Grimace, os resultados foram mais díspares e não apresentaram significância estatística em comparação com o salina induzido (p: 0,571) mas com uma tendência de estabilização da dor do D7 ao D14 no grupo de 200mg/kg. **Conclusão:** O estudo conclui que o óleo de copaíba possui um efeito anti-inflamatório relevante e um provável efeito analgésico.

Palavras chave: Óleo de copaíba, Cistite Intersticial, Von Frey, Ciclofosfamida, Escala Grimace.

ABSTRACT

Introduction: Interstitial cystitis (IC) is characterized by pelvic pain and chronic inflammatory process, irritative urinary symptoms for more than 6 weeks and has low efficacy with current treatments. The technical and ethical difficulty in studying in humans led to the development of experimental models to evaluate possible new treatments. Copaiba oil (OC) is known for its anti-inflammatory properties and has been traditionally used to treat inflammation and pain; however, its potential applicability in IC is unknown. **Objective:** To evaluate the anti-inflammatory and analgesic effects of copaiba oil in a rat model of cystitis. **Methods:** Sixty rats were divided into six groups: healthy saline (without IC induction and treated with 0.9% saline), induced saline (IC induction and treated with 0.9% saline) and meloxicam (positive control) and three groups treated with different concentrations of copaiba oil (50mg/kg, 100mg/kg and 200mg/kg). The cystitis model was induced by intraperitoneal administration of cyclophosphamide. The inflammatory response was evaluated by absolute mast cell count and histological evaluation of the bladder. Mechanical allodynia was measured by the Von Frey test, while pain was evaluated by the Grimace scale. Statistical analysis was performed by univariate analysis of variance (One-way ANOVA), followed by Tukey's test. **Results:** The groups treated with OC showed a positive response, with a progressive reduction in histological changes as the dose increased. In the 200mg/kg group, an almost complete normalization of the samples was observed, with slight circulatory congestion, without significant inflammatory infiltration ($p = 0.0327$ in relation to the induced saline). All groups treated with OC showed a significant reduction in the mast cell count compared to the induced saline group, especially at the concentration of 200mg/kg ($p = 0.007$). In the Von Frey test, the groups treated with OC did not obtain statistically significant results, however, with a tendency of reduction compared to the induced saline group in the 200mg/kg group ($p = 0.068$). In the Grimace scale, the results were more disparate and did not present statistical significance compared to the induced saline ($p = 0.571$) but with a tendency of stabilization of pain from D7 to D14 in the 200mg/kg group. **Conclusion:** The study concludes that copaiba oil has a relevant anti-inflammatory effect and a probable analgesic effect.

Keywords: Copaiba oil, Interstitial cystitis, Von Frey, Cyclophosphamide, Grimace scale.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Fluxograma esquemático da fisiopatologia da CI/SBD e os tratamentos visando a fisiopatologia individual. O número do tratamento mostrado no diagrama indica o local do tratamento visando a possível fisiopatologia.....27
- Figura 2** - Escala Grimace com as pontuações para cada aspecto analisado.....32
- Figura 3** - Árvore da copaíba: (A) Imagem de um tronco de copaíba com (B) destacando o local de coleta de óleo-resina.....33
- Figura 4**- Delineamento experimental: grupos controles divididos de acordo com o tempo de tratamento (A); grupos experimento (OC em diferentes doses) divididos de acordo com o tempo de tratamento (B).....37
- Figura 5** - Foto da indução da CI com CYP.....38
- Figura 6** - Desenho esquemático do protocolo experimental.....39
- Figura 7** - Animais nas gaiolas sendo realizado teste com Von Frey digital (A); Pesquisadores realizando o teste e as anotações (B).....41
- Figura 8** - Foto micrografias do fígado de uma das amostras do grupo OC1x com presença de degeneração hidrópica (DH). Aumento 4X (A) e aumento 10X (B). Lâmina corada pela técnica HE.....42
- Figura 9** - Fotomicrografia da histologia normal da bexiga com a camada mucosa (E), submucosa (SM), muscular (M) e serosa (S). Aumento de 10x. Lâmina corada pela técnica HE.....43

Figura 10 - Fotomicrografia da bexiga mostrando presença de hemorragia (H) em camada mucosa e submucosa no aumento de 10x em moderada quantidade (A) e em grande quantidade (B); Infiltrado leucocitário mononuclear perivascular (I) em aumento de 40x na submucosa (C) e na mucosa (D). Lâmina corada pela técnica HE.....44

Figura 11 - Fotomicrografia da bexiga do grupo OC2x mostrando a redução no infiltrado de células inflamatórias mononucleares (I) com aspecto quase normal das camadas celulares, somente apresentando quadro de congestão (C) mais pronunciado. Em aumento de 10X (A) e 40x (B). Lâmina corada pela técnica HE.....45

Figura 12 - Fotomicrografia da bexiga com coloração AT evidenciando a presença de aumento de mastócitos (M) no tecido em aumento 40x.....46

Figura 13 - Comparação dos valores absolutos dos mastócitos por grupo.....47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação entre os grupos com relação as alterações histológicas circulatórias (congestão, edema e hemorragia) com média e desvio padrão em comparação com controle (Salina Induzida).....45

Tabela 2 - Avaliação da contagem de mastócitos (médias, intervalo de confiança e significância estatística) em relação ao grupo controle (Salina Induzida).....46

Tabela 3 - Análise da reposta média da aferição do Von Frey por dia de estudo.....47

Tabela 4 - Avaliação de tendências de acordo com P-valor das médias entre grupo controle e os outros grupos por dias de tratamento.....48

Tabela 5 - Comparação da média da Escala Grimace por dias de tratamento.....49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINEs	Anti-inflamatórios Não Hormonais
AT	Azul de Toluidina
Botox	Toxina Botulínica
CB2	Canabinoides tipo 2
CCBS-UFMA	Centro de ciências biológicas e da saúde
CEUA	Comitê de ética em experimentação animal
CH	Cistite Hemorrágica
CI	Cistite Intersticial
COX	Cicloxigenase
COX-2	Cicloxigenase tipo 2
CYP	Ciclofosfamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
FDA	Food and Drug Administration
GAG	Glicosaminoglicanos
HE	Hematoxilina-Eosina
HIC	Cistite Intersticial com Lesões de Hunner
IL	Interleucina
i.p	Intraperitoneal
LEED	Laboratório Experimental para Estudo da Dor
M	Grupo Meloxicam
MCP-1	Proteína Quimioatraente de Monócitos 1
NFκB	Fator Nuclear κ beta
NGF	Fatores de crescimento nervoso
NHIC	Cistite Intersticial sem Lesões de Hunner
OC	Óleo de Copaíba
OC0,5x	Grupo Óleo de Copaíba 0,5x
OC1x	Grupo Óleo de Copaíba 1x
OC2x	Grupo óleo de Copaíba 2x
PGS	Prostaglandinas
PPS	Pentosano Polissulfato de Sódio
SBD	Síndrome da Bexiga Dolorosa
SF0.9%	Soro fisiológico a 0,9%

SI	Grupo Salina Induzido
SS	Grupo Salina Sadio
SUFU	Sociedade para Urodinâmica e Urologia Feminina
TNF- α	Fator necrose tumoral alfa
UFMA	Universidade Federal do Maranhão
VCAM	Molécula de Adesão Celular Vascular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
2.1 Cistite Instestinal/ Síndrome da Bexiga Dolorosa (CI/SBD).....	19
2.1.1 Fisiopatologia da CI/SBD.....	20
2.1.2 Classificação e clínica.....	22
2.1.3 Diagnóstico e tratamento.....	23
2.2 Avaliação Experimental.....	27
2.2.1 Modelos experimentais de CI/SBD.....	27
2.2.2 Avaliação de dor no modelo de CI.....	30
2.3 Óleo de Copaíba.....	32
3 OBJETIVOS.....	35
3.1 Objetivo Geral.....	35
3.2 Objetivos Específicos.....	35
4 METODOLOGIA.....	36
4.1 Animais.....	36
4.2 Delineamento Experimental.....	36
4.3 Modelo de cistite induzida por ciclofosfamida.....	37
4.4 Óleo de Copaíba (OC)	38
4.5 Desenvolvimento do estudo, coleta de dados e morte dos animais.....	38
4.6 Análise Histológica.....	39
4.7 Avaliação da alodinia mecânica (Teste De Von Frey).....	40
4.8 Avaliação da dor – Escala Grimace.....	41
4.9 Análise Estatística.....	41
5 RESULTADOS.....	42
5.1 Análise Histológica.....	42
5.1.1 Análise histológica do fígado.....	42
5.1.2 Análise histológica da bexiga.....	42
5.1.3 Avaliação contagem de Mastócitos.....	46
5.2 Avaliação da alodinia mecânica (Teste de Von Frey)	47
5.3 Avaliação da escala Grimace.....	48
6 DISCUSSÃO.....	50

7 CONCLUSÃO.....	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
APENDICE A – Protocolo CEUA.....	62
APENDICE B – Ficha protocolo dos animais.....	63