



**REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**

TEREZA CRISTINA MONTEIRO DE MELO PRAZERES

**CUMINALDEÍDO COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA PARA CISTITE
INTERSTICIAL INDUZIDA POR CICLOFOSFAMIDA: AVALIAÇÃO DAS
PROPRIEDADES ANALGÉSICA E ANTI- INFLAMATÓRIA**

SÃO LUÍS

2025

TEREZA CRISTINA MONTEIRO DE MELO PRAZERES

**CUMINALDEÍDO COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA PARA CISTITE
INTERSTICIAL INDUZIDA POR CICLOFOSFAMIDA: AVALIAÇÃO DAS
PROPRIEDADES ANALGÉSICA E ANTI- INFLAMATÓRIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
da Rede Nordeste de Biotecnologia – Ponto Focal
do Maranhão, como requisito para obtenção do
Título de Doutora em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dra. Maria do Socorro de Sousa
Cartágenes

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Sousa Andrade

Coordenador: Prof. Dr. Antonio Marcus Paes

SÃO LUÍS

2025

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

Monteiro de Melo Prazeres, Tereza Cristina.

Cuminaldeído como alternativa terapêutica para cistite intersticial induzida por ciclofosfamida : avaliação das propriedades analgésica e anti-inflamatória / Tereza Cristina Monteiro de Melo Prazeres. - 2025.

87 f.

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

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - Renorbio/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2025.

1. Cuminaldeído. 2. Cistite Intersticial. 3. Síndrome da Bexiga Dolorosa. 4. Mastócitos. 5. Interleucinas. I. de Sousa Catágenes, Maria do Socorro. II. Título.



Universidade Federal do Maranhão

Av. dos Portugueses, 1966 - Vila Bacanga, São Luís - MA, 65080-805

Telefone: (98)3272- 8000

E-mail: renorbio@ufma.br

Homepage: <http://www.renorbio.org.br>

FOLHA APROVAÇÃO DEFESA DA TESE

ALUNA: Tereza Cristina Monteiro De Melo Prazeres

TÍTULO: “CUMINALDEÍDO COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA PARA CISTITE INTERSTICIAL INDUZIDA POR CICLOFOSFAMIDA: AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANALGÉSICA E ANTI- INFLAMATÓRIA”

PROFESSORA ORIENTADORA: Maria do Socorro de Sousa Cartágenes

BANCA EXAMINADORA	CONCEITO	ASSINATURA
Profª. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes UFMA - PRESIDENTE		
Prof. Dr. Daniel Wagner Santos UNIFESP		
Profª. Dra. Maria do Desterro Brandão UFMA		
Profª. Dra. Flavia Castello Branco Vidal UFMA		
Prof. Dr. Antonio Carlos Romão Borges UFMA		

DATA DA APROVAÇÃO: 14/07/2025

HORÁRIO: 17:35

LOCAL: São Luís

TEREZA CRISTINA MONTEIRO DE MELO PRAZERES

**CUMINALDEÍDO COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA PARA CISTITE
INTERSTICIAL INDUZIDA POR CICLOFOSFAMIDA: AVALIAÇÃO DAS
PROPRIEDADES ANALGÉSICA E ANTI- INFLAMATÓRIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
da Rede Nordeste de Biotecnologia – Ponto Focal
do Maranhão, como requisito para obtenção do
Título de Doutora em Biotecnologia.

Aprovada em 14/07/2025__

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes
Universidade Federal do Maranhão – Orientadora

Prof. Dr. Marcelo Sousa Andrade
Universidade Federal do Maranhão – Coorientador

Prof. Dr. Daniel Wagner Santos
Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Profa. Dra. Maria do Desterro Brandão
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Profa. Dra. Flavia Castello Branco Vidal
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof. Dr. Antonio Carlos Romão Borges
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Teresa Monteiro de Melo, uma mulher de poucas letras, mas dotada de uma sabedoria ímpar, que, por conta própria, buscou o conhecimento necessário para cuidar e ensinar a seus quatorze filhos o valor do estudo, mesmo sendo uma família de agricultores do interior do Piauí; e João Olímpio de Melo (*in memoriam*), que sempre ofereceu apoio incondicional, contribuindo de forma exemplar para a formação do caráter de cada um de nós. Com o amor mais puro e verdadeiro, eles nos deram o melhor presente que alguém poderia oferecer: um lar repleto de união e afeto, sob as bênçãos de Deus e Nossa Senhora.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Instituição Universidade Federal do Maranhão, bem como ao Programa de Pós-graduação Doutorado em Biotecnologia - Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) - UFMA que incentivam e possibilitam o desenvolvimento de pesquisa em nosso país, inclusive pelo incentivo financeiro concedido para aquisição de material específico do estudo.

Agradeço à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) e Biotério Central da UFMA, em nome dos professores Verônica Saraiva Silva e Rafael Cardoso Carvalho, que obedecendo às normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), prontamente atendeu às nossas demandas.

Agradeço ao Laboratório de Imunofluorescência e Microscopia (LIME - HUUFMA) na pessoa do Professor Gyl Eanes Barros Silva, que com seu espírito pesquisador, derruba todas as barreiras para o aluno desenvolver seu trabalho, exemplo maior de professor pesquisador da Universidade Federal do Maranhão.

Agradeço também ao Laboratório de Biologia Molecular (LABIOMOL-UFMA), em especial ao Professor Marcelo Souza de Andrade que disponibilizou seu tempo e expertise no desenvolvimento do estudo molecular nesta pesquisa.

Ainda gostaria de agradecer ao Departamento de Morfologia da UFMA, representado pela Professora Joicy Cortez de Sá Sousa, pelo valioso trabalho de análise histopatológica do material de estudo.

Agradecimento especial a todos os professores e alunos que compõe o Laboratório para Estudo Experimental da Dor (LEED), fazendo um trabalho brilhante de colaboração em pesquisa experimental de alta qualidade, especialmente aos alunos de iniciação científica Isabella Barreto Froz, Wesley do Nascimento Silva, Rafael França Lima, e Amanda Tissore Forville Reis, Gabriel de Meneses Mendes e Heitor Martins Rezende.

Agradeço ao Grupo de Pesquisa em Química Medicinal e Biotecnologia, QUIMEBIO da Universidade Federal do Maranhão em nome do Professor Jefferson Almeida Rocha e Marcelo da Costa Mota pela parceria na realização do estudo in sílico do composto.

Agradecimentos aos colegas de pós-graduação, representados aqui por Rafael Antonio Carvalho Freire e Larissa Rodrigues de Sousa, que dividiram comigo todo o desenvolvimento e execução desta pesquisa, proporcionando momentos de grande aprendizado e parceria.

Agradeço em especial à Professora Maria do Socorro de Sousa Cartágenes, que me orientou de forma exemplar durante todo o desenvolvimento da pesquisa, sempre atenta a todos os detalhes,

nos dando a honra de compartilhar da bancada de experimentação e do dia a dia do professor pesquisador. Seu apoio incondicional, paciência e sabedoria me guiaram nos momentos mais desafiadores ao longo destes anos.

Sou imensamente grata por todas as conversas, risadas, conselhos e até mesmo pelas broncas que sempre vinham com amor e desejo de me ver crescer. Mais do que uma parceria acadêmica, construímos uma relação que levarei comigo para sempre.

Obrigada por acreditar em mim, por caminhar ao meu lado nesse desafio científico. Nossa amizade é um dos maiores presentes que recebi durante essa jornada.

“Faça o teu melhor na condição que você tem, enquanto você não tem condições melhores para fazer melhor ainda”.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A cistite intersticial (CI), também conhecida como síndrome da bexiga dolorosa, é caracterizada por dor pélvica crônica e sintomas urinários incapacitantes, com resposta limitada às terapias convencionais. O cuminaldeído, um composto orgânico encontrado no cominho e na canela, tem sido estudado por suas propriedades anti-inflamatórias e analgésicas, devido à sua capacidade de modular a resposta inflamatória e reduzir a sensibilização das vias nociceptivas. Estudos pré-clínicos sugerem que o cuminaldeído pode inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias e apresentar efeitos antioxidantes, contribuindo para a proteção das células uroteliais. Nesse contexto, destaca-se a importância da docagem molecular como ferramenta fundamental para o estudo de compostos com potencial terapêutico, permitindo prever interações com alvos moleculares relacionados à dor e inflamação, otimizando a seleção de candidatos para análises em modelos experimentais.

OBJETIVOS: Avaliar os efeitos analgésicos e anti-inflamatórios do cuminaldeído em modelo de CI induzida por ciclofosfamida em ratos. **MÉTODOS:** Foi realizada docagem molecular do cuminaldeído com proteínas-alvo associadas a vias inflamatórias para avaliar a afinidade e interações moleculares. Experimentalmente, os ratos foram divididos em 8 grupos (n=5 cada). Grupo SHAM: animais saudáveis sem indução de cistite e sem tratamento; Grupo cistite: indução de cistite por ciclofosfamida e tratados com solução salina 0,9%; Grupo cuminaldeído 2,5 mg/kg (7 dias): indução de cistite e tratamento com cuminaldeído 2,5 mg/kg/dia por 7 dias; Grupo cuminaldeído 2,5 mg/kg (14 dias): indução de cistite e tratamento com cuminaldeído 2,5 mg/kg/dia por 14 dias; Grupo cuminaldeído 5 mg/kg (7 dias): indução de cistite e tratamento com cuminaldeído 5 mg/kg/dia por 7 dias; cuminaldeído 5 mg/kg (14 dias): indução de cistite e tratamento com cuminaldeído 5 mg/kg/dia por 14 dias; Grupo meloxicam 2,5 mg/kg: indução de cistite e tratamento com meloxicam 2,5 mg/kg/dia. A dor foi avaliada por Von Frey e a escala de Grimace; citocinas IL-1 β e IL-10 foram quantificadas por ELISA, além da avaliação histológica e contagem do número absoluto de mastócitos. **RESULTADOS:** O cuminaldeído apresentou boa afinidade de ligação com as proteínas avaliadas, destacando-se a 3RZE (-6,9 kcal/mol) e a 3ODU (-6,8 kcal/mol). As interações observadas reforçam seu potencial como modulador de alvos relacionados à dor e inflamação, destacando-o como candidato terapêutico promissor. Na avaliação do limiar de dor pelo teste Von Frey, observou-se alta frequência de resposta nos grupos induzidos nas fases iniciais. Houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0006$) entre o grupo tratado com 5 mg/kg por 7 dias de cuminaldeído e o grupo não tratado, indicando melhora no limiar nociceptivo com o tratamento. Não houve diferença estatisticamente significativa nos demais dados comportamentais entre os grupos ao longo do tratamento. Os níveis de IL-1 β estavam elevados nos animais induzidos sem tratamento, enquanto o tratamento com cuminaldeído reduziu significativamente esses níveis ($p < 0,05$), sugerindo que houve inibição de citocinas pró-inflamatórias. Houve também aumento de IL-10 nos animais tratados, sugerindo possível ativação dos mecanismos anti-inflamatórios endógenos favorecendo um equilíbrio e modulando a resposta imune. Observou-se redução significativa no número de mastócitos nos animais tratados com 5 mg/kg de cuminaldeído por 7 dias, em comparação ao grupo não tratado ($p = 0,014$), com evidente melhora dos achados histológicos. **CONCLUSÃO:** O cuminaldeído demonstrou efeitos analgésicos, anti-inflamatórios e uroprotetores no modelo de síndrome da bexiga dolorosa, com aumento do limiar nociceptivo, redução de mastócitos e modulação de citocinas ($\downarrow$ IL-1 β ; $\uparrow$ IL-10). A docagem molecular reforça seu potencial terapêutico, configurando-o como uma alternativa promissora para o manejo da dor e inflamação nessa condição.

Palavras-Chave: Cuminaldeído; Cistite intersticial; Síndrome da bexiga dolorosa; Mastócitos, Interleucinas.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Interstitial cystitis (IC), also known as painful bladder syndrome, is characterized by chronic pelvic pain and debilitating urinary symptoms, with limited response to conventional therapies. Cuminaldehyde, an organic compound found in cumin and cinnamon, has been studied for its anti-inflammatory and analgesic properties due to its ability to modulate the inflammatory response and reduce sensitization of nociceptive pathways. Preclinical studies suggest that cuminaldehyde can inhibit the production of pro-inflammatory cytokines and exert antioxidant effects, contributing to the protection of urothelial cells. In this context, molecular docking stands out as a key tool for investigating compounds with therapeutic potential, as it allows the prediction of interactions with molecular targets related to pain and inflammation, thereby optimizing the selection of candidates for experimental models. **OBJECTIVES:** To evaluate the analgesic and anti-inflammatory effects of cuminaldehyde in a rat model of cyclophosphamide-induced IC. **METHODS:** Molecular docking of cuminaldehyde was performed with target proteins associated with inflammatory pathways to assess affinity and molecular interactions. Experimentally, rats were divided into eight groups (n=5 each). SHAM group: healthy animals without cystitis induction and without treatment; Cystitis group: cystitis induced with cyclophosphamide and treated with 0.9% saline; Cuminaldehyde 2.5 mg/kg (7 days): cystitis induction and treatment with cuminaldehyde 2.5 mg/kg/day for 7 days; Cuminaldehyde 2.5 mg/kg (14 days): cystitis induction and treatment with cuminaldehyde 2.5 mg/kg/day for 14 days; Cuminaldehyde 5 mg/kg (7 days): cystitis induction and treatment with cuminaldehyde 5 mg/kg/day for 7 days; Cuminaldehyde 5 mg/kg (14 days): cystitis induction and treatment with cuminaldehyde 5 mg/kg/day for 14 days; Meloxicam 2.5 mg/kg group: cystitis induction and treatment with meloxicam 2.5 mg/kg/day. Pain was assessed using the Von Frey and Grimace scales; cytokines IL-1 β and IL-10 were quantified by ELISA, along with histological evaluation and absolute mast cell counts. **RESULTS:** Cuminaldehyde showed good binding affinity to the evaluated proteins, particularly 3RZE (-6.9 kcal/mol) and 3ODU (-6.8 kcal/mol). The observed interactions reinforce its potential as a modulator of pain- and inflammation-related targets, highlighting it as a promising therapeutic candidate. In pain threshold assessment using the Von Frey test, a high response frequency was observed in induced groups at early stages. A statistically significant difference ($p = 0.0006$) was found between the group treated with 5 mg/kg cuminaldehyde for 7 days and the untreated group, indicating improved nociceptive threshold with treatment. No statistically significant differences were found in other behavioral data between groups throughout treatment. IL-1 β levels were elevated in untreated induced animals, whereas treatment with cuminaldehyde significantly reduced these levels ($p < 0.05$), suggesting inhibition of pro-inflammatory cytokines. An increase in IL-10 was also observed in treated animals, suggesting possible activation of endogenous anti-inflammatory mechanisms, promoting balance and modulating the immune response. A significant reduction in mast cell numbers was observed in animals treated with 5 mg/kg cuminaldehyde for 7 days compared to the untreated group ($p = 0.014$), with evident improvement in histological findings. **CONCLUSION:** Cuminaldehyde demonstrated analgesic, anti-inflammatory, and uroprotective effects in the interstitial cystitis model, with increased nociceptive threshold, reduced mast cells, and cytokine modulation ($\downarrow$ IL-1 β ; $\uparrow$ IL-10). Molecular docking reinforces its therapeutic potential, positioning it as a promising alternative for managing pain and inflammation in this condition.

Keywords: Cuminaldehyde; Interstitial cystitis; Painful bladder syndrome; Mast cells; Interleukins.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Interação de células não neuronais com nociceptores na modulação da dor.....	19
Figura 2. Atividade normal, sensibilização e atividade espontânea de um nociceptor primário.....	20
Figura 3. Regulação da indução da dor por meio de interações macrófago-nociceptor.....	21
Figura 4. Regulação da resolução da dor por meio de interações macrófago-nociceptor.....	22
Figura 5. Modulação da dor por microRNAs derivados de macrófagos.....	23
Figura 6. Interação imune e neuronal na síndrome da dor pélvica crônica.....	25
Figura 7. Inervação sensorial extrínseca do cólon, reto e bexiga.....	27
Figura 8. Camada de glicosaminoglicano no epitélio vesical normal.....	28
Figura 9. Mecanismos moleculares envolvidos na síndrome da bexiga dolorosa.....	31
Figura 10. Planta <i>Cuminum cyminum</i> L. e suas sementes.....	34
Figura 11. Estrutura molecular do cuminaldeído.....	35

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACR	-	Acroleína
CCBS	-	Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
CEUA	-	Comissão de Ética de Uso Animal
CONCEA	-	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
COX-2		Ciclo-oxigenase-2
CPPS	-	Síndrome da Dor Pélvica Crônica
CST	-	Cistite
CYP	-	Ciclofosfamida
CXCR4	-	Receptor de quimiocina
DAMPs	-	Padrões Moleculares Associados a Dano Tecidual
GAG	-	Glicosaminoglicano
GPR37	-	Receptor acoplado à proteína G
IASP	-	Associação Internacional para o Estudo da Dor
CI	-	Cistite Intersticial
CCL2	-	Quimiocina (C-C motif) ligand 2
CXCL1	-	Quimiocina (C-X-C motif) ligand 1
CI/SBD	-	Cistite Intersticial/ Síndrome da bexiga dolorosa
IBS	-	Síndrome do Intestino Irritável
IFO	-	Ifosfamida
IFN γ	-	Interferon Gama
IL-1 β	-	Interleucina Beta
iNOS	-	Óxido Nítrico Sintase Induzível

5IRX	-	Estrutura cristalográfica da COX-2 (PTGS2) disponível no Protein Data Bank.
LABIOMOL	-	Laboratório de Biologia Molecular
LEED	-	Laboratório para Estudo Experimental da Dor
LIME	-	Laboratório de Imunofluorescência e Microscopia
LPS-E. coli	-	Lipopolissacarídeos
6LFL	-	C-X-C chemokine receptor type 2
MHC	-	Complexo Maior de Histocompatibilidade
MyD88	-	Myeloid differentiation primary response 88
NK-kB	-	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NGF	-	Fator de Crescimento do Nervo
NIDDKD	-	National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases
NMDA	-	N-Metil-D - aspartato
NPD1	-	Neuroprotectina D1
NSP	-	Nociceptores Sensitivos Primários
PAMPs	-	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
3ODU	-	CXCR4 Receptor de Quimiocina
PDB	-	Banco de Dados de Proteína
3RZE	-	H1 Receptor de Histamina
SNC	-	Sistema Nervoso Central
SNP	-	Sistema Nervoso Periférico
TNF α	-	Fator de Necrose Tumoral
TrkA	-	Receptor Tropomiosina Quinase A
TRL	-	Toll-like receptors
TTX-r	-	Tetrodoxina-resistentes
UFMA	-	Universidade Federal do Maranhão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 A Complexidade do fenômeno doloroso	17
2.2 Mastócitos e condições inflamatórias	23
2.3 Inervação sensorial do cólon/reto e bexiga: vias esplâncnicas, pélvicas e aferentes	26
2.4 Síndrome da bexiga dolorosa	28
2.5 Modelo de cistite induzida por ciclofosfamida	33
2.6 Cuminaldeído: da química às aplicações terapêuticas	34
2.7 Docagem Molecular: Ferramenta no Planejamento de Fármacos	36
2.8 Papel das interleucinas IL-1 β e IL10 na modulação inflamatória da síndrome da bexiga dolorosa.....	38
2.9 Micro-RNAs como biomarcadores diagnósticos e alvos terapêuticos síndrome da bexiga dolorosa	39
CAPÍTULO I - ARTIGO PUBLICADO	40
CAPÍTULO II- ARTIGO ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO	58
3. CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
ANEXOS	86
Anexo I - Comprovante de submissão.....	86

1. INTRODUÇÃO

A cistite intersticial (CI), também conhecida como síndrome da bexiga dolorosa (SBD), é uma condição clínica caracterizada pela hipersensibilidade da bexiga, na qual pequenos volumes de urina provocam uma sensação desagradável e persistente de dor, pressão ou desconforto relacionada ao enchimento vesical. Frequentemente, está associada a sintomas urinários como urgência, noctúria e aumento da frequência miccional por mais de seis semanas, sem infecção urinária ou outras causas identificáveis. Os achados cistoscópios característicos incluem úlceras de Hunner e alterações estruturais da bexiga, como inflamação e rigidez da parede vesical (Hanno *et al.*, 2015).

Estudos epidemiológicos indicam uma prevalência de 2,7% a 6,5% entre mulheres adultas nos Estados Unidos, enquanto em homens, a prevalência varia de 2,9% a 4,2%, sugerindo que esta condição é subdiagnosticada nesta população. Essa prevalência tende a ser mais expressiva em populações com dor pélvica crônica, com uma taxa de 32% de CI, o que ressalta a importância de incluir a CI como uma possibilidade diagnóstica em mulheres e homens que apresentam dor pélvica crônica (Cheng, Rosamilia e Healey, 2012).

A síndrome da bexiga dolorosa (SBD) não se limita a sintomas exclusivamente urológicos, estando frequentemente associada a manifestações sistêmicas que evidenciam sua complexidade clínica. O diagnóstico, na maioria dos casos, é estabelecido de forma tardia, anos após o início dos sintomas, o que contribui para a progressão da doença e impacta negativamente a qualidade de vida dos pacientes. Foi evidenciada uma associação significativa entre a doença inflamatória pélvica e SBD, elevando o risco em 3,6 vezes, em decorrência da inflamação persistente, da sensibilização dos órgãos pélvicos e intensificação da dor. Além disso, a coexistência frequente com outras condições de dor crônica, como enxaqueca, fibromialgia e síndrome do intestino irritável, sugere que a fisiopatologia da CI/SBD pode transcender as alterações locais da bexiga, possivelmente envolvendo mecanismos sistêmicos de sensibilização central (Chung *et al.*, 2015; Claw, 2015).

A etiologia e fisiopatologia ainda são incertas, com várias hipóteses envolvendo inflamação, disfunção neurogênica e irritantes químicos da bexiga. Destacam-se lesão do epitélio e aumento da permeabilidade urotelial, inflamação neurogênica com ativação de mastócitos e possível envolvimento autoimune (Birder, 2019). A hipersensibilidade visceral pode ocorrer por sensibilização periférica ou central, mediada pela liberação de neurotransmissores como glutamato, ativando receptores NMDA (N-Metil-D-aspartato) e

aumentando a excitabilidade neuronal, tornando estímulos normais dolorosos (Di Maio *et al.*, 2023). Além da complexidade da apresentação clínica que envolve múltiplos mecanismos periféricos e centrais, do atraso e dificuldade no diagnóstico, ainda existe uma importante limitação das opções terapêuticas, principalmente o manejo do principal sintoma, que é a dor, e, portanto, a CI representa um desafio para pacientes, médicos e pesquisadores.

Diante desse cenário, torna-se necessário buscar alternativas seguras e eficazes que ampliem as opções terapêuticas disponíveis para essa condição. Nesse contexto, muitos compostos naturais possuem atividades farmacológicas relevantes, como ação anti-inflamatória, analgésica, antibacteriana e antioxidante, sendo capazes de atuar em diferentes mecanismos envolvidos, o que é vantajoso em doenças complexas como a síndrome da bexiga dolorosa (Paul *et al.*, 2025; Amalia *et al.*, 2019). Além disso, esses compostos podem reduzir efeitos colaterais e melhorar a adesão ao tratamento, ao mesmo tempo em que favorecem a descoberta de novos mecanismos de ação.

O cuminaldeído é um composto bioativo encontrado principalmente no óleo essencial de *Cuminum cyminum* L. (cominho), sendo responsável por diversas atividades farmacológicas (Huo, YY *et al.* 2021). Estudos demonstram que o cuminaldeído apresenta propriedades anti-inflamatórias, inibindo citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-6, além de bloquear a ação de enzimas como COX-2, reduzindo a dor associada a processos inflamatórios (Koohsari S. *et al.* 2020). Seu perfil antioxidante auxilia na redução do estresse oxidativo, que é um dos fatores envolvidos em condições inflamatórias crônicas (Taghizadeh *et al.*, 2015). Além disso, possui atividade analgésica, modulando receptores opioides e canais TRPA1, contribuindo para a redução de dor neuropática e inflamatória (Sheikholeslami M., *et al.* 2021). Essas características tornam o cuminaldeído um candidato promissor para o manejo de condições como a síndrome da bexiga dolorosa, em que a inflamação e a dor são os principais desafios no tratamento.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos uroprotetores do cuminaldeído no tratamento da SBD induzida por ciclofosfamida, bem como investigar sua possível ação analgésica e anti-inflamatória em um modelo de cistite em ratos, examinando os efeitos sobre a resposta imunológica por meio da dosagem de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. Além disso, buscou-se analisar, por meio de estudos de docagem molecular, o potencial de interação do cuminaldeído com proteínas-alvo relacionadas à dor e à inflamação, ampliando a compreensão de seus mecanismos de ação.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A Complexidade do Fenômeno Doloroso

A Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) define a dor como a experiência sensorial e emocional desagradável associada, ou semelhante àquela associada a danos reais ou potenciais nos tecidos. Isso expande a definição anterior ao incluir experiências de dor que não envolvem danos detectáveis nos tecidos, maior ênfase na subjetividade da dor influenciada por fatores biopsicossociais, destacando que a dor não pode ser reduzida à atividade nociceptiva e que a comunicação verbal não é essencial para sua identificação (Raja *et al.*, 2020).

A percepção da dor é aprendida ao longo da vida, é única para cada indivíduo. Embora a dor faça parte da experiência cotidiana e, na maioria das vezes, seja trivial, transitória ou tratada com analgésicos simples, algumas pessoas enfrentam dores intensas ou recorrentes, decorrentes de etiologias variadas, frequentemente associadas à inflamação ou lesão de tecidos periféricos, real ou potencial. Nesses casos, a dor pode ser desencadeada por estímulos externos ou ocorrer de forma espontânea, refletindo presumivelmente alterações anormais na atividade aferente, no processamento central e na sensibilidade neuronal. Pesquisas recentes indicam que a ativação de células gliais e mastócitos desencadeia um estado de neuroinflamação, caracterizado pela liberação de mediadores inflamatórios, como as citocinas periféricas IL-1 β e TNF- α , que sensibilizam os nociceptores periféricos e contribuem para a hipersensibilidade central (Kempuraj *et al.*, 2017).

A neuroinflamação provou ser um mecanismo fundamental na gênese da dor aguda e sua transição para dor neuropática e crônica. A inflamação nos sistemas nervoso periférico (SNP) e central (SNC) é um dos principais fatores determinantes no desenvolvimento da dor crônica. Dependendo do estágio (agudo ou crônico), a inflamação pode ser vista como benéfica ou prejudicial. Na fase aguda, a inflamação atua como um mecanismo protetor, promovendo a eliminação de ameaças internas e a reparação tecidual, porém quando se torna crônica, pode levar à persistência da dor devido à ativação continuada de mediadores inflamatórios e sensibilização dos nociceptores. (Fang *et al.*, 2023; Echeverria-Villabolos *et al.*, 2023).

A classificação da dor é fundamental para o diagnóstico e tratamento adequados, sendo geralmente categorizada com base na duração, origem e mecanismos fisiológicos envolvidos. Quanto à duração, a dor pode ser classificada em aguda, quando é de curta duração e geralmente associada a lesões teciduais recentes; ou crônica, quando persiste por mais de três meses e pode não estar diretamente relacionada a uma lesão atual. Em relação à origem, a dor é dividida em

nociceptiva, causada por estímulos nocivos externos; neuropática, decorrente de lesão ou doença do sistema somatossensitivo; inflamatória, relacionada a danos teciduais e inflamação; e nociplástica ou funcional, associada a uma alteração na nocicepção sem evidência clara de dano tecidual ou lesão do sistema somatossensitivo (Treeder *et al.*, 2019).

Na dor aguda, também conhecida como adaptativa é considerada a resposta fisiológica, normal e previsível aos estímulos térmicos, químicos ou mecânicos adversos, caracterizada por curta duração e reversão total do fenômeno com a interrupção do estímulo (IASP, 2024).

Em contraste com a dor aguda, a dor crônica não se limita a ser apenas um sintoma, mas constitui um estado patológico bem definido, caracterizado por uma disfunção do sistema somatossensitivo, que pode persistir mesmo após a resolução do processo que a originou; e embora geralmente adaptativa, a dor pode ter efeitos adversos no funcionamento social e psicológico, especialmente em condições crônicas. Além disso, a dor crônica é considerada não adaptativa, refletindo claramente uma anormalidade no processamento dos sinais dolorosos (Ji *et al.*, 2018; Fong *et al.*, 2014).

A dor é consequência de mecanismos multifatoriais, caracterizados por alterações moleculares, celulares e sistêmicas no sistema nervoso. Um evento nocivo que estimula fibras nervosas aferentes periféricas também pode ativar receptores nociceptivos situados no gânglio da raiz dorsal e no corno dorsal da medula espinhal, bem como células gliais periféricas, desencadeando a sensibilização periférica e estendendo a neuroinflamação ao sistema nervoso central. Uma vez ativada, a micróglia produz citocinas, quimiocinas e neuropeptídeos que podem aumentar a sensibilidade e as propriedades de disparo de neurônios de segunda ordem, regulando positivamente a sinalização de informações nociceptivas para o córtex cerebral. A Figura 1 ilustra esse processo, conhecido como sensibilização central, crucial para a cronificação da dor aguda (Ji *et al.*, 2018; Woolf *et al.*, 2004).

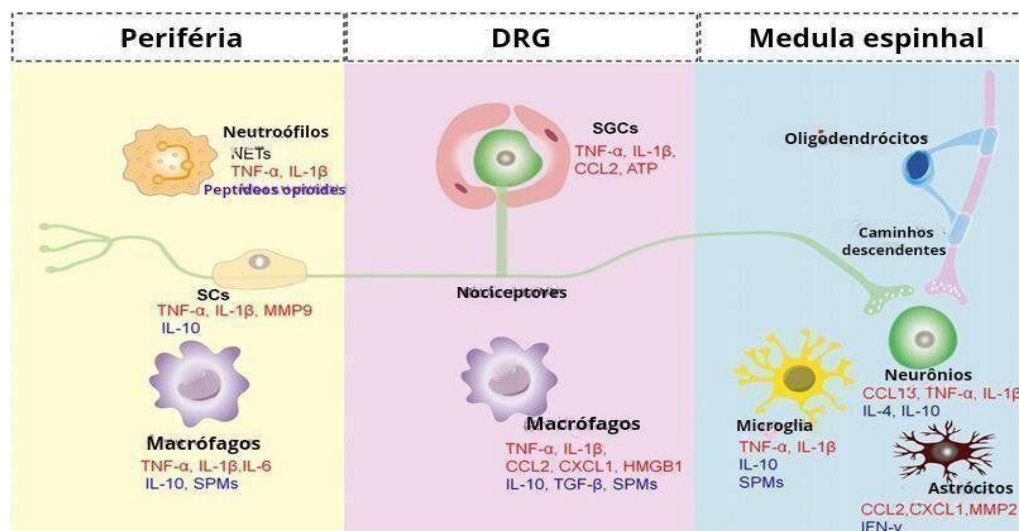


Figura 1. Interação de células não neuronais com nociceptores na modulação da dor. Células não neuronais (como células de Schwann, células gliais satélites, microglia, astrócitos, oligodendrócitos, macrófagos e neutrófilos) produzem mediadores pró-inflamatórios (VERMELHO) e anti-inflamatórios (AZUL), que podem atuar em seus receptores correspondentes nos nociceptores, causando sensibilização periférica e central, marcada por um estado de hipersensibilidade e hiperexcitabilidade do nociceptor. Adaptado de Fang *et al.* Molecular Pain, 2023.

A inflamação é uma resposta complexa do organismo a agentes nocivos, como infecções ou lesões. Na inflamação aguda, ocorrem eventos vasculares iniciais, incluindo vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, permitindo que proteínas plasmáticas e leucócitos migrem para o local afetado. Posteriormente, há infiltração de leucócitos, principalmente neutrófilos, que fagocitam agentes patogênicos e liberam mediadores inflamatórios (Parisien *et al.*, 2022). Se o agente agressor não for eliminado, o processo pode evoluir para uma inflamação crônica, caracterizada pela presença de macrófagos, linfócitos e proliferação de fibroblastos, levando à fibrose e possível degeneração tecidual. Na fase tardia, se observa a migração celular e a infiltração de leucócitos e células fagocitárias. Na fase proliferativa crônica, ocorre degeneração tecidual e fibrose, podendo causar a dor através da ativação e sensibilização de nociceptores (Chen e Donnelly, 2019). Para que ocorra este processo, vários são os mediadores químicos envolvidos e responsáveis pelos eventos vasculares, permitindo a vasodilatação, estase vascular e o aumento da permeabilidade capilar, além de garantir a migração de leucócitos da circulação para o tecido inflamado e coordenar as variadas respostas de defesa local. Alguns desses mediadores têm a capacidade de estimular neurônios sensoriais locais, contribuindo para o início da nocicepção (Ji *et al.*, 2018).

Com o acúmulo local de prostaglandinas, tromboxanos e outros mediadores químicos, como as aminas simpatomiméticas e a substância P, nociceptores sensitivos primários (NSP)

são induzidos, aumentando sua sensibilização. Isto ocorre devido à queda do limiar de ativação dos nociceptores e pela facilitação da condução neuronal por tornar funcionais uma família de canais de sódio, denominadas tetrodoxina-resistentes (TTX-r). Esses canais parecem ser específicos dos neurônios nociceptivos inflamatórios (Fang *et al.*, 2023).

Conforme apresentado na Figura 2, observa-se que sensibilização neural ocorre no sistema nervoso periférico (SNP) através da hiperexcitabilidade dos nociceptores devido à ativação continuada de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento do nervo (NGF), enquanto a sensibilização no sistema nervoso central (SNC), resulta de alterações na plasticidade sináptica no corno dorsal da medula espinhal, envolvendo células gliais ativadas (Fang *et al.*, 2023; Ji, Chameissian e Zhang, 2016).

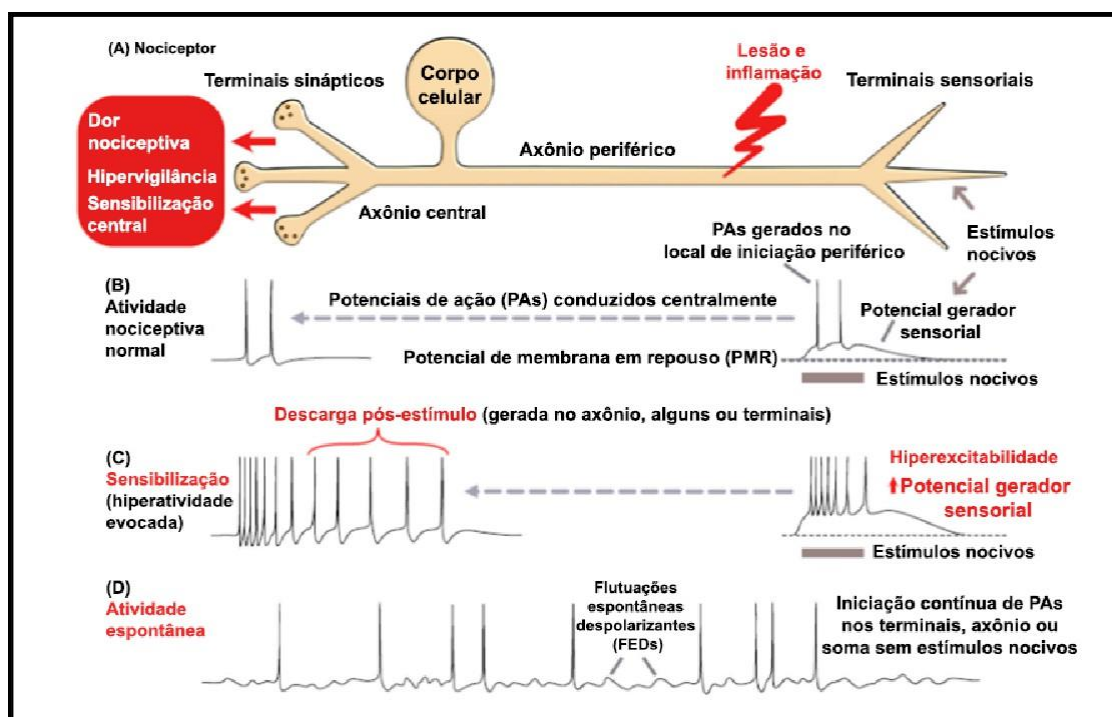


Figura 2. Atividade normal, sensibilização e atividade espontânea de um nociceptor primário após lesão. Representação da atividade de nociceptores primários em condições normais e após lesão, mostrando desde a ativação por estímulos nocivos até a sensibilização e a atividade espontânea associadas à dor crônica. Adaptado de Fang *et al.*, Molecular Pain, 2023.

De acordo com a Figura 3, os terminais centrais dos nociceptores na medula espinhal formam sinapses nociceptivas com neurônios pós-sinápticos para processar a transmissão da dor no sistema nervoso central. Além disso, vias descendentes também exercem um efeito inibitório na transmissão da dor na medula espinhal (Echeverria-Villalobos *et al.*, 2023).

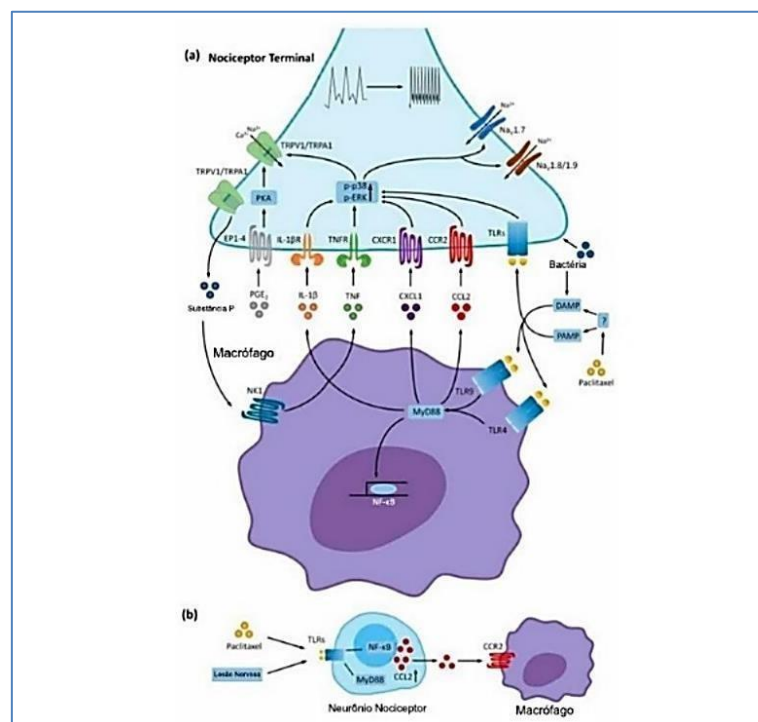


Figura 3. Regulação da indução da dor por meio de interações macrófago-nociceptor. (a) A ativação de TLRs (por exemplo, TLR4 e TLR9) por PAMPs e DAMPs aumenta a síntese e liberação de citocinas e quimiocinas inflamatórias (TNF, IL-1 β , CCL2, CXCL1) e mediadores lipídicos. (b) Após lesão nervosa e quimioterapia, os neurônios nociceptores produzem CCL2 por meio da ativação de TLRs, MyD88 e NF- κ B. O CCL2 ativa macrófagos via CCR2 e induz a infiltração de macrófagos no DRG e nos tecidos nervosos. Adaptado de Chen *et al.*, Current Opinion in Neurobiology, 2019.

A resposta inflamatória neurogênica pode ser vascular ou avascular e caracteriza-se pela ativação de neurônios sensoriais primários e liberação de neuropeptídeos inflamatórios (Matsuda e Huh, 2018).

Conforme ilustrado na Figura 4, a presença de linfócitos e macrófagos, como fonte de citocinas, constitui ligação entre a lesão celular e os sinais locais e sistêmicos de inflamação (Walters *et al.*, 2021.). Uma vez liberados, os mediadores inflamatórios atuam de forma sinérgica, modificando os mecanismos de transdução periférica do estímulo nociceptivo. Esse processo aumenta a sensibilidade dos nociceptores de alto limiar, resultando em redução no limiar de percepção da dor, resposta exacerbada a estímulos nociceptivos supralimiáres (hiperalgesia) e ocorrência de dor espontânea (alodinia) (Walters *et al.*, 2021.).

A ativação do macrófago GPR37 por NPD1 promove a troca fenotípica de macrófagos semelhantes a M1 para macrófagos semelhantes a M2, que contribuem para a resolução da

inflamação e da dor por meio do aumento da liberação de IL-10 e TGF- β e diminuição da liberação de IL-1 β e TNF. IL-10 e TGF- β podem atuar em seus respectivos receptores em nociceptores para inibir a fosforilação de MAPKs (p-p38 e pERK) e a sensibilização periférica (Chen e Donnelly, 2019).

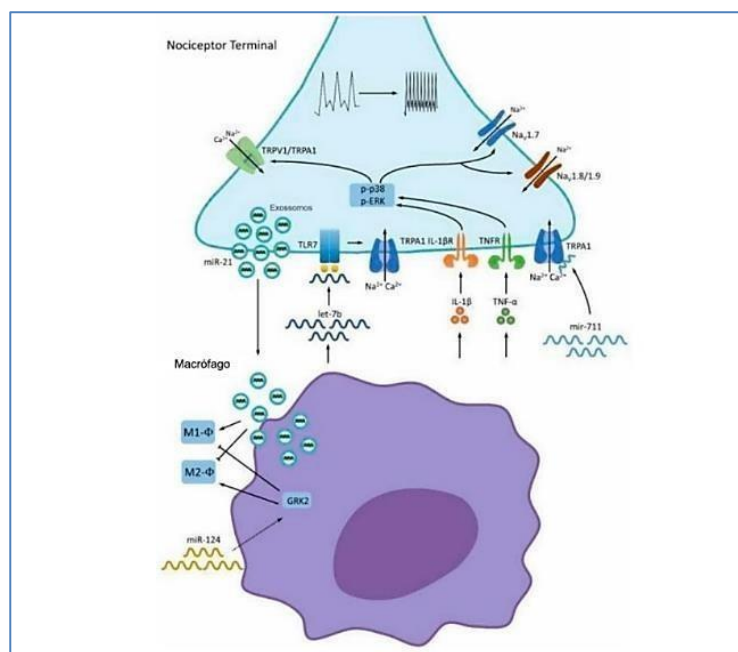


Figura 4. Regulação da resolução da dor por meio de interações macrófago-nociceptor. Macrófagos liberam mediadores que reduzem a excitabilidade dos nociceptores e promovem a resolução da dor. Adaptado de Chen *et al.*, Current Opinion in Neurobiology, 2019.

A Figura 5 demonstra que os neurônios nociceptores expressam miR-21, e os exossomos contendo miR-21 são secretados após a ativação do nociceptor. Após a secreção, os exossomos contendo miR-21 são absorvidos pelos macrófagos. MiRNAs como miR-21 aumentam a dor neuropática promovendo um fenótipo inflamatório (M1) em macrófagos, enquanto miRNAs como miR-124 favorecem um fenótipo anti-inflamatório (M2), modulando as interações neuro-imunes e influenciando diretamente os nociceptores (Chen e Donnelly, 2019). Essa interação contribui para o controle da dor e a restauração da homeostase após lesão.

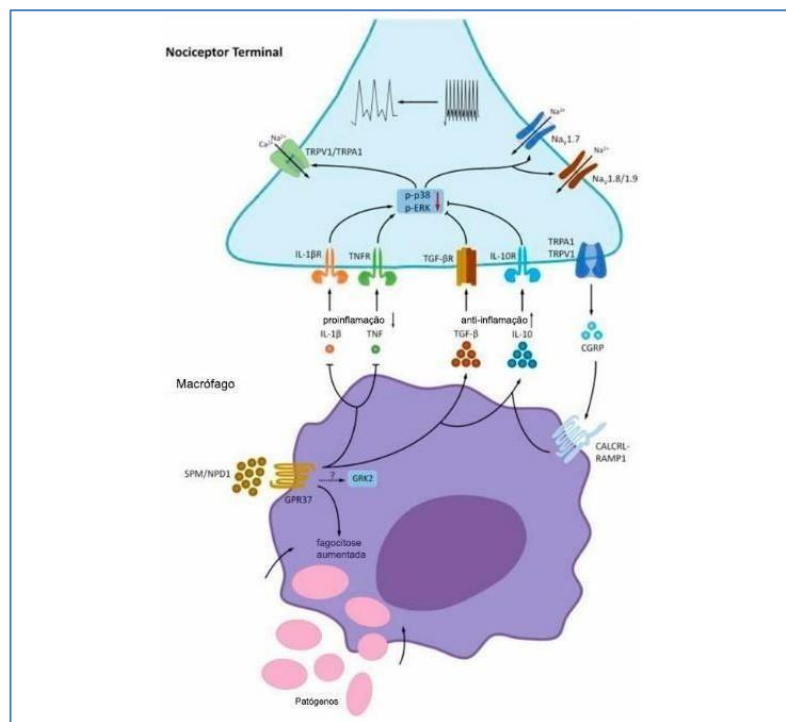


Figura 5. Modulação da dor por microRNAs derivados de macrófagos. Macrófagos liberam microRNAs que modulam a expressão gênica em nociceptores, regulando a inflamação e a excitabilidade neuronal. Adaptado de Chen *et al.*, Current Opinion in Neurobiology, 2019.

É possível que a inflamação ultrapasse certos níveis, permitindo que quantidades suficientes de mediadores endógenos penetrem na circulação sistêmica, disseminando-se pelo sangue e provoquem uma variedade de reações, chamadas de resposta de fase aguda, sendo definida como uma resposta multifatorial do organismo. Estas respostas envolvem mudanças na concentração plasmática de proteínas hepáticas, hormônios, metabólitos intermediários, neutrofilia e alteração do “set point” cerebral de controle dos sinais de doença, os chamados “comportamentos de doença” que incluem o desenvolvimento da febre, a perda do apetite, o aumento do ciclo de sono, a diminuição da atividade motora, a redução da libido e a diminuição do comportamento de alerta (Konsman *et al.*, 2016).

2.2 Mastócitos e Condições Inflamatórias

Os mastócitos são derivados de células precursoras hematopoiéticas tipo CD34⁺ na medula óssea, que circulam na forma imatura, alcançando a maturidade quando estão em um tecido específico. Participam na primeira linha de defesa contra infecções e se localizam nos vasos sanguíneos, linfáticos e nervos. Podem desempenhar funções protetoras quanto patológicas, participando de processos alérgicos, da cicatrização de feridas, da angiogênese e

resposta inflamatória (Eliehl, Wohrl e Bielory, 2020).

São células que desenvolvem um importante papel na resposta inflamatória neurogênica, apresentando relação direta com as fibras sensoriais primárias, contribuindo para a rápida ocorrência de sensibilização neuronal periférica, que é mediada pelo fator de crescimento do nervo (NGF). Os mastócitos são conhecidos por expressar receptores TrkA (receptor tropomiosina quinase A) em sua membrana celular e, por conseguinte, a ligação de NGF (fator de crescimento do nervo) pode causar degranulação, estabelecendo um mecanismo de feedback que iria promover sensibilização periférica. Em homens com síndrome da dor pélvica crônica, os níveis de NGF são elevados no plasma seminal e tem relação direta com a intensidade da dor, sugerindo a existência de mecanismos de sensibilização periférica subjacentes na síndrome da dor pélvica crônica (CPPS), com o NGF e mastócitos como potenciais mediadores. O aumento da expressão de NGF é conhecido por elevar a excitabilidade neuronal e aumentar a densidade do número de células T, mais especificamente TCD8+, exacerbando a resposta imune adaptativa pro-inflamatória (Pattabiraman *et al.*, 2021).

Os complexos de MHC (complexo maior de histocompatibilidade) de classe II são exteriorizados na membrana, para que as células T reguladoras tipo T CD4+ reconheçam os peptídeos correspondentes e sofram expansão clonal se diferenciando em células efetoras Th1, Th2 ou Th17, na presença de IL-12 e INF; IL-4 e IL-2 ou TGF- β , IL-6 e IL-21, respectivamente (Mukai *et al.*, 2018 e Chatzileontiadou *et al.*, 2020). A apresentação do antígeno pelas células dendríticas imaturas da periferia, pode levar a ativação e proliferação das células T efetoras ou citotóxicas na ausência de uma resposta das células T regulatórias (Treg), induzindo os linfócitos T a conduzir o processo inflamatório de forma desregulada com aumento do número de células TCD4+, elevação da secreção e expressão de interleucina 17 (IL-17), de Interferon gama (IFN γ) e fator de necrose tumoral (TNF α) (Ding e Bromberg, 2012).

A ativação da imunidade foi bem descrita em pacientes portadores da CPPS através da sua associação com os baixos níveis de IL-10, por uma provável ação regulatória dos mastócitos. Tem sido demonstrada a função de mediador tanto de Treg quanto de Th17, que são encontrados na proximidade dos órgãos linfoides secundários, como principal fonte de IL-17 (Wang *et al.*, 2016). O papel dos mastócitos como principal efetor e mediador celular na progressão da quebra da tolerância, ativação neuronal e, eventualmente sensibilização, tem sido um dos maiores focos de pesquisas atualmente. Os mastócitos expressam várias citocinas em altos níveis: IL-6, IL-21, IL-23 e TGF β . Por outro lado, podem diminuir a supressão de células T efetoras e de células T reguladoras, e podem reduzir a suscetibilidade destas células à supressão (Murphy, Schaeffer e Thumbikat, 2016; Chen, Zhang e Liang, 2021).

A interleucina 10 (IL-10) e a IL-1 β desempenham papéis críticos na modulação da resposta inflamatória e na atividade dos mastócitos. IL-10 é uma citocina imunossupressora que pode inibir a migração e a ativação dos mastócitos, contribuindo para a resolução do quadro inflamatório. Por outro lado, a IL-1 β é conhecida por estimular a liberação de mediadores inflamatórios, como prostaglandinas pelos mastócitos, ampliando a resposta inflamatória e recrutando mais células imunológicas para o local da inflamação (Hogaboam, Befus e Wallace, 1993). A interação entre essas citocinas e os mastócitos pode influenciar tanto a promoção quanto a resolução de processos inflamatórios, dependendo do microambiente imunológico.

Observa-se na Figura 6, que embora os mastócitos sejam importantes para o desenvolvimento da CPPS, mediadores adicionais de dor podem estar presentes, tanto em humanos como em ratos, que leva ao aumento de citocinas e linfócitos nos tecidos afetados (Murphy, Schaeffer e Thumbikat, 2016).

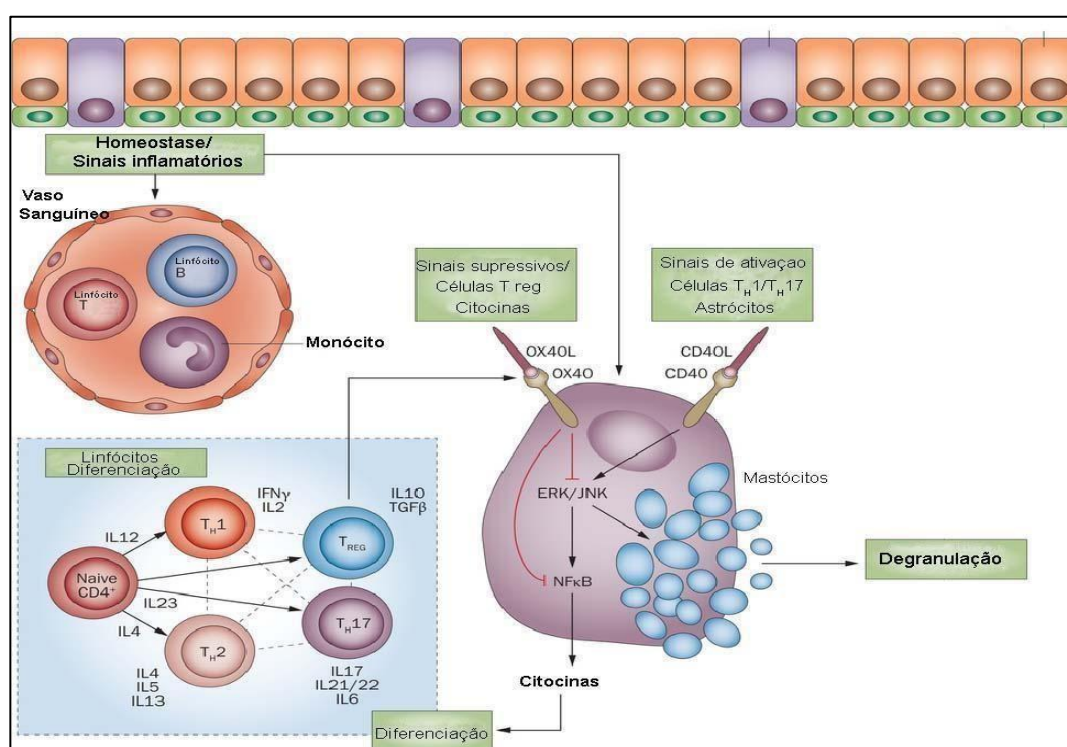


Figura 6. Interação imune e neuronal na síndrome da dor pélvica crônica. Modelo hipotético mostrando a sinalização intracelular que leva à diferenciação de células T CD4+ e à ativação de mastócitos, os quais interagem entre si e com neurônios, promovendo a sensibilização e manutenção da dor pélvica crônica. Adaptado de Murphy *et al.*, Nat Rev Urol, 2014.

2.3 Inervação Sensorial do Cólon/reto e bexiga: Vias esplâncnicas, pélvicas e aferentes

A dor visceral, caracterizada pelo desconforto proveniente de órgãos internos nas cavidades torácica, abdominal ou pélvica, como a bexiga, frequentemente apresenta-se como difusa, de localização imprecisa, sendo acompanhada por intensas respostas autonômicas e emocionais, afetando mais de 20% da população global. Suas causas incluem doenças inflamatórias, como doença inflamatória intestinal, síndrome do intestino irritável (IBS), além de disfunções funcionais, como a síndrome da bexiga dolorosa (SBD) (Meerveld e Johnson, 2018).

Como mostrado na Figura 7, cólon e o reto são inervados por aferentes espinhais que seguem os nervos esplâncnicos e pélvicos. Esses aferentes possuem corpos celulares, localizados, respectivamente, nos gânglios da raiz dorsal toracolombares e lombossacrais. Seus axônios centrais terminam nos respectivos cornos dorsais toracolombar e lombossacral da medula espinhal, onde fazem sinapse com neurônios de segunda ordem. As projeções periféricas desses aferentes inervam a mucosa, os gânglios mioentéricos/submucosos e os músculos. Eles também envolvem os vasos sanguíneos dentro da submucosa e no mesentério. Isso dá origem a classes funcionais distintas de aferentes: musculares, mucosos e vasculares (vias esplâncnicas e pélvicas); e mesentéricos (somente esplâncnicos) e musculares/mucosos (somente pélvicos) (Davis, Brady e Creagh, 2014).

A bexiga também é inervada por aferentes das vias pélvicas e esplâncnicas, com projeções centrais para os cornos dorsais toracolombares e lombossacrais da medula espinhal. Os aferentes da bexiga têm terminações periféricas especializadas localizadas no urotélio, mas predominantemente no músculo liso do detrusor. Esses aferentes possuem limiares de ativação mecânica baixos e altos para a distensão, permitindo a detecção completa da distensão e contração da bexiga (Grundy, Erickson e Brierley, 2019).

Na cistite, a inflamação e o dano tecidual desempenham um papel central no desenvolvimento da dor, promovendo a liberação de mediadores químicos que ativam e sensibilizam os nociceptores aferentes primários (Davis, Brady e Creagh, 2014).

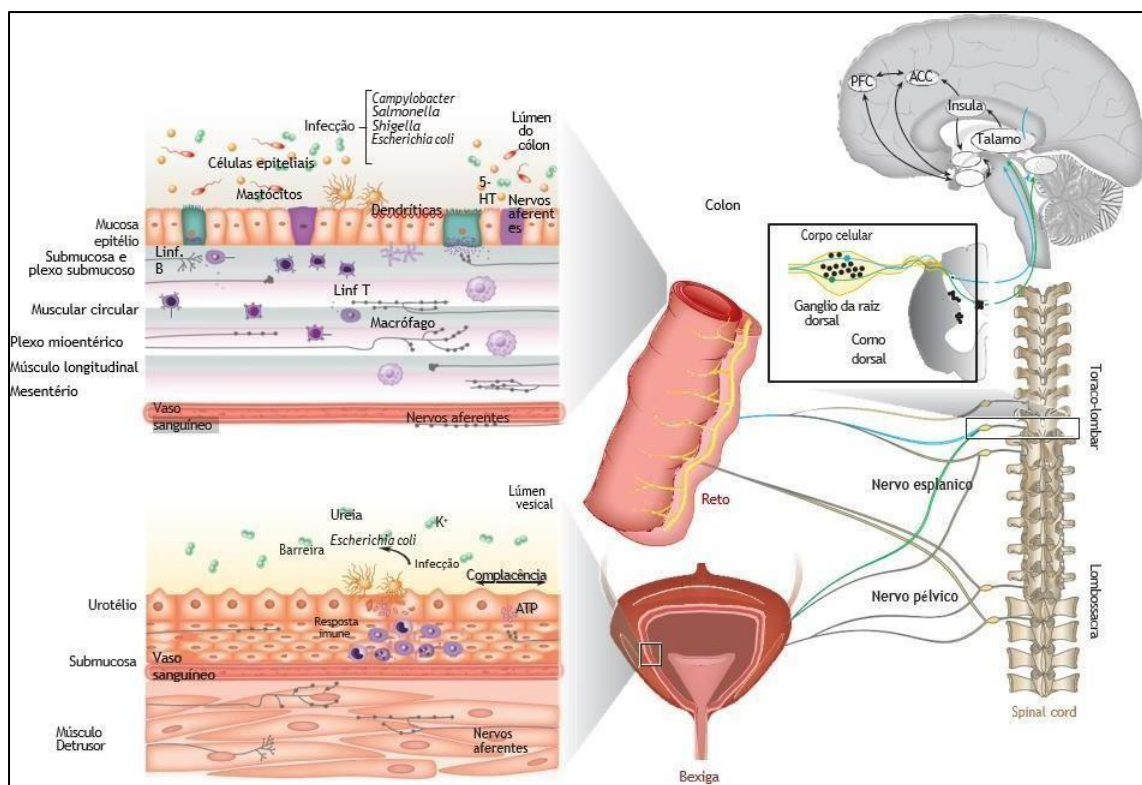


Figura 7. Inervação sensorial extrínseca do cólon, reto e bexiga. Esquema ilustrando os trajetos de fibras sensoriais extrínsecas que inervam cólon, reto e bexiga, destacando a organização anatômica e os nervos responsáveis pela condução de sinais sensoriais desses órgãos ao sistema nervoso central. Adaptado de Grundy *et al.*, Annu. Rev. Physiol., 2019.

Como ilustrado na Figura 8, em uma bexiga normal, o epitélio é protegido por uma camada de glicosaminoglicano (GAG) que é iônica e hidrofílica, e serve como uma barreira contra a urina, que é hiperosmolar e rica em ácido e potássio. Na SBD, a deficiência da camada GAG aumenta a permeabilidade da bexiga, desencadeando uma resposta inflamatória que compromete o reparo dessa barreira e estabelece um círculo vicioso de exposição, inflamação e dor (Davis, Brady e Creagh, 2014).

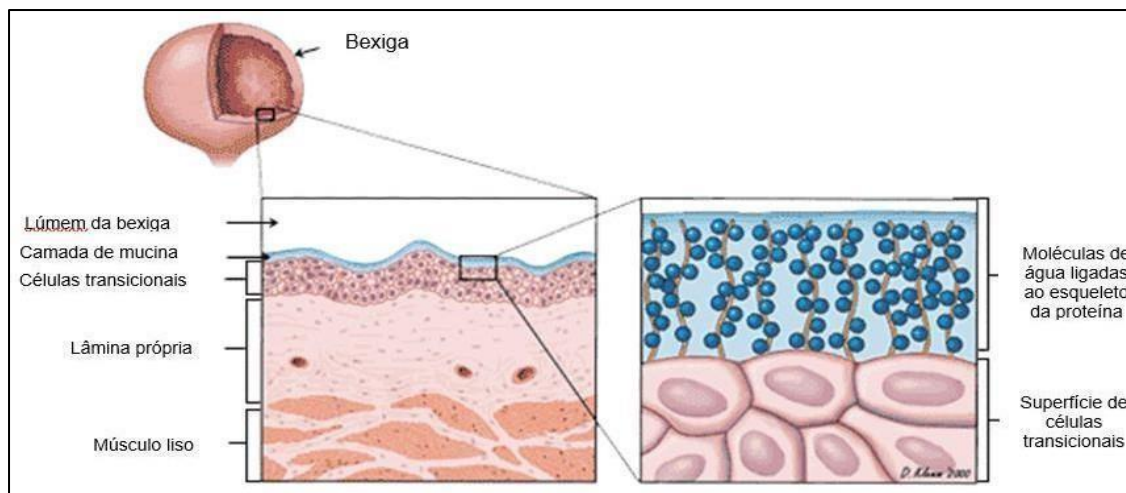


Figura 8. Camada de glicosaminoglicano no epitélio vesical normal. Epitélio transicional de uma bexiga normal recoberta pela camada de glicosaminoglicano (GAG) que atua como barreira protetora. As moléculas de água (círculos azuis) se ligam ao esqueleto proteico (linhas marrons), contribuindo para a integridade e proteção da mucosa vesical. Adaptado de Metts *et al.* Am Fam Physician, 2001.

2.4 Síndrome da Bexiga Dolorosa

A doença inflamatória crônica da bexiga é uma condição frequente, manifestada por aumento da frequência e urgência urinárias, dor pélvica associada ao enchimento da bexiga e diminuição da capacidade vesical. Caracteriza-se por inflamação, rigidez da parede vesical e dor visceral, sendo a dor o achado clínico mais importante (Hanno *et al.*, 2015; Clemens *et al.*, 2022; Marcu, Campian e Tu, 2018). O mecanismo pelo qual a inflamação leva à urgência e frequência urinárias, além da dor nos pacientes com SBD, permanece desconhecido. Suspeita-se inclusive, que a SBD não corresponda a uma única doença, mas que apresenta vários mecanismos fisiopatológicos que resultam em sintomas comuns a outras doenças.

É difícil estabelecer precisamente sua epidemiologia, por falta de uma definição uniforme e de um método válido para o diagnóstico, que seja reprodutível e possa ser utilizado na população em geral. A utilização do método de revisão de prontuário demonstrou uma prevalência nos Estados Unidos de SBD de 0,2% para mulheres e 0,04% para homens. Estima-se que a prevalência de SBD atinja 1 a 3 milhões de mulheres nos Estados Unidos (Davis, Brady e Creagh, 2014). O aumento da frequência urinária é observado em 92% dos pacientes e a urgência urinária em 84% deles. O tempo médio de aparecimento de todo o quadro clínico é de dois anos, sendo que a dor sempre vem precedida dos sintomas urinários (Warren *et al.*, 2014).

Apesar da SBD se apresentar como uma doença inflamatória local da bexiga, muitos

pacientes não respondem às terapias locais, sugerindo que existam fatores sistêmicos associados, visto que há elevada prevalência de morbidades associadas como a fibromialgia e a síndrome do intestino irritável que também se apresentam como síndrome crônica dolorosa, sem causa identificável (Messelink *et al.*, 2024).

A dor urogenital, classificada como dor visceral, localiza-se tipicamente na região pélvica, e está descrita com dor, pressão ou desconforto após a ingestão de determinados alimentos ou durante o enchimento vesical, melhorando com o esvaziamento da bexiga, podendo se irradiar para a uretra, vulva, vagina, reto, abdome inferior e região lombar (Messelink *et al.*, 2024).

A dor visceral causada pela cistite é uma das queixas mais frequentes observadas na prática clínica (Marcu, Campian e Tu, 2018). O dano tecidual e inflamatório causados por mediadores químicos que ativam e sensibilizam os nociceptores aferentes primários têm importante papel no desenvolvimento da dor visceral, sugerindo que o processo de sensibilização central da dor esteja alterado na SBD levando a um quadro de alodinia e hiperalgesia (Amaya *et al.*, 2013).

O National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDKD) descreve os critérios para diagnóstico de SBD, segundo os quais, o paciente deve apresentar glomerulações ou a clássica úlcera de Hunner na cistoscopia, associada à dor vesical, urgência miccional e frequência urinária.

Em decorrência da dificuldade de se estabelecer o diagnóstico, a SBD é frequentemente subdiagnosticada ou tem seu diagnóstico realizado de forma tardia. Por esta razão o diagnóstico é realizado baseado nos sintomas clínicos e na ausência de outras doenças que se apresentam com o mesmo quadro. A avaliação propedêutica deve incluir história clínica detalhada, exame físico e exames laboratoriais incluindo urinálise, urocultura, citologia urinária nos pacientes com micro hematúria ou história de tabagismo (Clemens *et al.*, 2022).

Diante de um paciente com suspeita de SBD, o exame de cistoscopia deve ser realizado, podendo revelar duas formas mais frequentes de apresentação: as glomerulações caracterizadas por hemorragias puntiformes submucosas ou as úlceras de Hunner, descritas pela primeira vez em 1915 (Fall *et al.*, 2020). Porém estas lesões podem estar presentes em outras doenças inflamatórias da bexiga ou mesmo em pacientes assintomáticos que são submetidos a cistoscopia por outro motivo (Wennevik *et al.*, 2016). Além disso, os achados endoscópicos não estão associados de forma significativa aos sintomas clínicos (Plekhanova Kochetov e Baikov, 2023). Como exame complementar, o estudo urodinâmico pode ser utilizado para avaliar outros sintomas associados do trato urinário inferior, pois não há critérios urodinâmicos

para o diagnóstico de SBD (Kuo e Kuo, 2013).

A SBD é um fenômeno inflamatório frequentemente associado à quimioterapia com oxazafosforinas, tratando-se de uma resposta inflamatória inata à ação da acroleína (ACR), metabólito hepático comum à ifosfamida (IFO) e à ciclofosfamida (CYP). O papel da resposta ao recrutamento de receptores toll-like (TRL) e do estímulo por TNF- α e IL-1 β com envolvimento de iNOS e COX-2 tem sido demonstrado neste fenômeno (Wang *et al.*, 2013). A ciclofosfamida é um agente antitumoral metabolizado em ACR no fígado, que se acumula na urina, causando estresse e morte celular, produzindo efeitos tóxicos responsáveis pela indução da cistite por ciclofosfamida, resultando em dor visceral (Boucher *et al.*, 2000). A cistite experimental é considerada como modelo de dor visceral e a injeção de CYP, ou mesmo da ACR em ratos e camundongos, tem sido utilizada para o estudo dos mecanismos relacionados à dor visceral (Augé *et al.*, 2020).

A Figura 9 sintetiza os mecanismos moleculares envolvidos na SBD. A ativação de mastócitos participa na patogênese da SBD através da liberação de citocinas, cininas, histaminas, leucotrienos, prostaglandinas e proteases (Shan *et al.*, 2019). Na SBD, observa-se um infiltrado inflamatório na lâmina própria representada por mastocitose, tecido de granulação, proliferação nervosa e erosão completa da superfície do urotélio.

Na SBD, lesões da mucosa vesical desencadeiam um processo inflamatório mediado por citocinas (IL-6, IL-1 β , IL-8, CCL2 e TNF- α), com recrutamento de linfócitos T e mastócitos. Esses mastócitos liberam triptases e VEGF, promovendo lesão vascular e hematúria. Os linfócitos T, por sua vez, produzem TGF- β 1, que estimula a transdiferenciação de fibroblastos em miofibroblastos, levando à produção excessiva de matriz extracelular e fibrose. Além disso, o potássio urinário e o NGF liberado por mastócitos contribuem para lesão neuronal e contrações vesicais disfuncionais (Brossard *et al.*, 2022).

Estes achados podem indicar subgrupos dentro do diagnóstico clínico e confirmar a hipótese de que as características estruturais relacionadas com inflamação celular, atividade no eixo dos mastócitos e perda da integridade endotelial, além da perda da barreira urotelial, podem produzir danos que justificariam a gravidade e variedade dos sintomas (Li *et al.*, 2012).

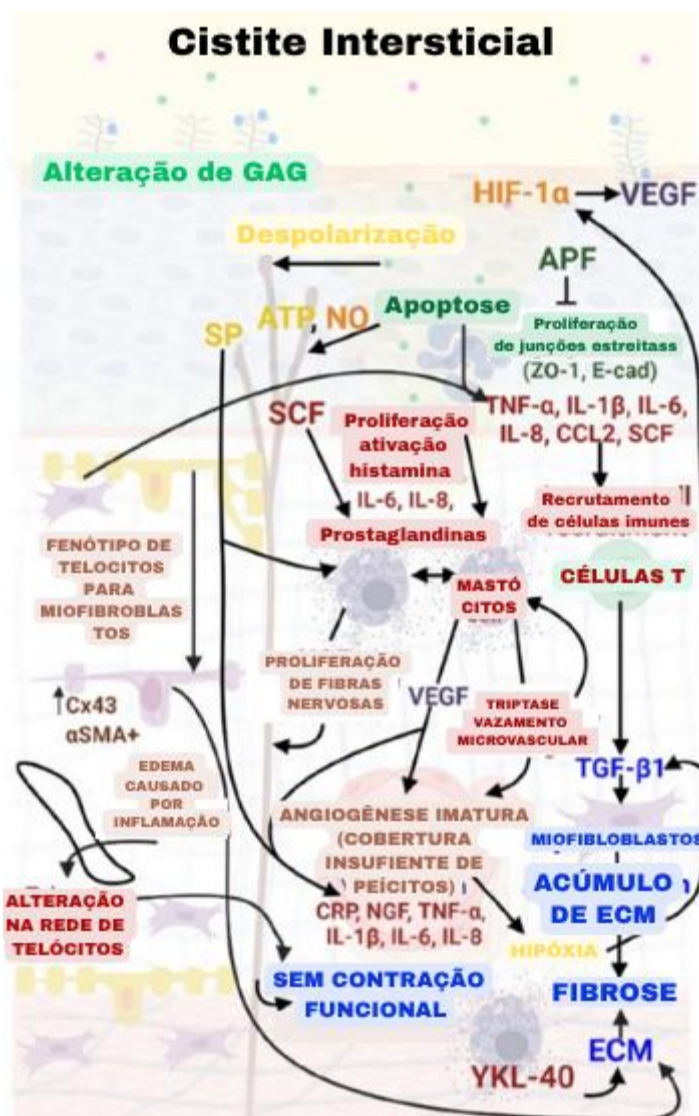


Figura 9. Mecanismos moleculares envolvidos na SBD. Lesões uroteliais desencadeiam inflamação com ativação de linfócitos T e mastócitos, levando a dano vascular e fibrose mediada por miofibroblastos. Adaptado de Brossard *et al.*, Biology, 2022.

Na cistite, a inflamação induz e mantém mudanças neurotróficas, além de aumentar a produção de fator do crescimento do nervo (NGF), que causa alterações nos neurônios motores e sensoriais responsáveis pela inervação da bexiga, independentemente do tipo de estímulo inflamatório (químico, imunológico ou mecânico) (Xie *et al.*, 2019). A persistência dos sintomas irritativos e dor, mesmo após ter cessado o estímulo, pode ser explicada pelas mudanças neuroplásticas que levam ao aumento da densidade dos nervos sensitivos na bexiga, o que mantém o quadro doloroso sem a presença de inflamação (Birder, 2019).

O manejo clínico da SBD depende da severidade dos sintomas, do julgamento clínico do médico e da preferência do paciente. A terapia multimodal e simultânea geralmente é

aplicada e deve ser sempre reavaliada caso não haja resposta adequada. O diagnóstico de SBD também deve ser reconsiderado, caso não haja melhora clínica no período de tratamento (Hanno *et al.*, 2011).

Como primeira linha de tratamento da SBD encontra-se a educação sobre hábitos saudáveis de vida, conhecimento sobre a função da bexiga normal e sobre a SBD. Informações sobre os tratamentos disponíveis e a possibilidade da necessidade de várias opções terapêuticas ao longo do tratamento devem ser discutidas com o paciente, assim como alívio do estresse, já que este aumenta a sensibilidade à dor (Hassai *et al.*, 2021).

Na segunda linha de tratamento está a abordagem multimodal da dor com fisioterapias e uso de analgésicos orais, além de antidepressivos tricíclicos, gabapentina e anti-histamínicos, assim como a instilação intravesical de drogas como o dimetilsulfóxido (DMSO) e anestésicos locais. De acordo com o Guideline publicado pela Associação Americana de Urologia em 2011 para o diagnóstico e tratamento da SBD, as terapias com instilação de drogas intravesicais estão listadas como terapêutica de segunda linha, apesar de ser uma das mais importantes propostas de tratamento devido ao alívio da dor com este tipo de terapia (Osman *et al.*, 2020). A instilação da lidocaína alcalinizada por via intravesical é apresentada como uma opção segura, factível e efetiva no tratamento de pacientes com SBD (Parsons *et al.*, 2015).

No tratamento de terceira linha estão incluídos a hidrodistensão sob anestesia com baixa pressão, e o tratamento das úlceras de Hunner, se presentes, através de laser ou eletrocautério, ou ainda pela injeção de triancinolona (Funaro *et al.*, 2018).

A neuroestimulação dos nervos sacrais e nervo pudendo por meios de dispositivos implantados pode ser uma opção terapêutica principalmente para os pacientes refratários às outras terapêuticas, constituindo a quarta linha de tratamento (Kendall, Schrijvers e Heesakkers, 2023).

A quinta linha de tratamento inclui a toxina botulínica e/ou o uso oral da ciclosporina, com a ressalva de que o uso da toxina botulínica acarretará a necessidade de cateterismo vesical intermitente e que a ciclosporina é um imunossupressor com possíveis eventos adversos associados (Giannantoni, Gubbiotti e Bini, 2019).

O tratamento cirúrgico está indicado somente quando as demais opções terapêuticas falharam e há comprometimento importante da qualidade de vida, devido à possibilidade de recorrência ou persistência dos sintomas após o procedimento cirúrgico. Varia desde cistoplastia até derivações urinárias com ou sem cistectomia, procedimentos de alta complexidade com todos os riscos inerentes ao tratamento cirúrgico (Zhang, Zhang e Wang, 2019).

2.5 Modelo de Cistite Induzida por Ciclofosfamida

A dificuldade de realização de estudos em humanos por razões técnicas ou éticas levou à necessidade do desenvolvimento de modelos experimentais de cistite que apresentem semelhança com a fisiopatologia da doença humana.

Song *et al* (2017) avaliou vários estudos sobre modelos para a indução da cistite, dividindo-os em três categorias: modelos nocivos intravesicais, estímulos sistêmicos e ambientais que causam inflamação na bexiga, e um modelo de cistite que ocorre naturalmente, sugerindo que modelos que avaliam somente a resposta vesical, podem não contemplar todos os parâmetros para a avaliação desta doença de forma adequada (Song *et al.*, 2017). Como exemplos, destacam-se: modelos induzidos em animais pela instilação vesical de agentes irritantes, como a urina de pacientes portadores de SBD, acetona em diferentes concentrações, formulações ácidas, óleo de mostarda, lipopolissacarídeos (LPS-*E. coli*) dentre outros (Kogan *et al.*, 2018). Além de agentes irritantes locais, foram descritos modelos de ação sistêmica como a injeção intravenosa de substância P, lipopolissacarídeos e ciclofosfamida; e modelos de causa ambiental como estresse físico e psicológico aplicado aos animais (Augé *et al.*, 2020).

A cistite ocorre de 3 a 4 horas após a injeção intraperitoneal de ciclofosfamida, resultando em uma condição inflamatória dolorosa com agentes neuroquímicos envolvidos no processo visceral nociceptivo (Boucher *et al.*, 200). Este mesmo modelo também foi descrito com a indução de cistite através da injeção de 300 mg/Kg de ciclofosfamida em camundongos por via intraperitoneal demonstrando que estavam presentes os sinais comportamentais de dor e estes estavam correlacionados com o grau de inflamação tecidual na bexiga (Lee *et al.*, 2019).

O modelo de dor visceral na cistite induzida por ciclofosfamida tem características únicas quando comparado a outros modelos de dor visceral. O estímulo é puramente visceral, confinado a uma única víscera, sem necessidade de anestesia para a indução, de rápida evolução, e pode ser monitorizada através de parâmetros comportamentais e achados histológicos. A cistite induzida por ciclofosfamida foi descrita utilizando doses de 100mg/Kg, aplicadas por via intraperitoneal em camundongos de diferentes espécies, com evidência de rápida evolução do processo inflamatório em 4 horas de avaliação (Sucic *et al.*, 2019).

Uma vez que o estímulo doloroso com a indução de cistite através da injeção intraperitoneal de ciclofosfamida se dá exclusivamente na bexiga, o modelo de dor visceral está bem estabelecido e pode ser rapidamente observado e monitorado através dos comportamentos dos animais logo nas primeiras quatro horas de observação (Kawasaki *et al.*, 2021). A ciclofosfamida foi bem descrita como indutora de lesões urológicas, incluindo micro

hematúria e cistite hemorrágica (Hassanein *et al.*, 2021; Zirak *et al.*, 202).

2.6 Cuminaldeído: da Química às Aplicações Terapêuticas

Compostos bioativos extraídos de plantas apresentam propriedades farmacológicas notáveis, destacando-se como promissoras fontes para a pesquisa e o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas inclusos para condições crônicas como a SBD. Dentre esses compostos, destaca-se o cuminaldeído, principal componente químico do *Cuminum cyminum* L., pertencente à família Apiaceae, conhecido como cominho, amplamente utilizado como tempero culinário em diferentes culturas de todo o mundo (Lee *et al.*, 2005). Na Figura 10, encontra-se a representação da planta de cominho, destacando suas estruturas características.”



Figura 10. Planta *Cuminum cyminum* L. e suas sementes. Fonte: Lee *et al.*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005.

A estrutura química do cuminaldeído, representada na Figura 11, é responsável por suas propriedades farmacológicas. Também denominado de 4-isopropilbenzaldeído, o cuminaldeído é um benzaldeído com um grupo isopropílico substituído na posição 4, composto basicamente por terpenos e flavonóides, principal componente químico encontrado na espécie vegetal *Cuminum cyminum* L. que também possui boa quantidade de minerais, vitaminas e aminoácidos, com importantes benefícios para a saúde. É reconhecido por seu potencial terapêutico antibacteriano, antidiabético, anti-osteoporótico, hipolipemiante, hipotensor, hepatoprotetor, imunomodulador, antioxidante, antiinflamatório e analgésico dentre outros (Singh *et al.*, 2021; Amalia *et al.*, 2019; Tomy *et al.*, 2014).



Figura 11. Estrutura molecular do cuminaldeído. (A) Estrutura em 2D da molécula de cuminaldeído ($C_{10}H_{12}O$). (B) Representação em 3D do cuminaldeído, destacando sua conformação espacial. Adaptado de Morshedi D *et al.*, Journal of Food Science, 2015.

O uso etnomédico e fitoquímico do Cominho (*C. cuminum*) pode ser através do óleo essencial que contém várias classes de compostos, incluindo terpenos, álcoois, fenóis e aldeídos. Mais precisamente, cuminaldeído, eugenol, b-pineno e alguns outros. Apresenta efeitos antinociceptivos e antineuropáticos ao longo da estimulação de receptores opióides, L-arginove guanilil ciclase / via Guanosina Monofosfato Cíclico (cGMP) e supressão de citocinas inflamatórias (Koohsari *et al.*, 2020). Possui também atividades antibacteriana, antifúngica, potencial inibitório, antibiofilme, atividade antiviral, efeito hipoglicemiante, efeito anticancerígeno, cicatrização de feridas e atividade ovicida (Tavakoli *et al.*, 2015).

Diante de sua composição e propriedades bioativas, diversos estudos têm investigado os benefícios do cuminaldeído em condições inflamatórias e dolorosas. Pesquisas recentes relatam que sua administração, isolada ou em associação com fármacos convencionais, pode potencializar os efeitos anti-inflamatórios e analgésicos, reforçando seu potencial inibitório como agente adjuvante no manejo de doenças inflamatórias. (De Moraes *et al.*, 2024).

Essa substância inibe a fibrilação da alfa-sinucleína, que em condições patológicas forma fibrilas insolúveis caracterizadas por corpos de Lewy, como na doença de Parkinson e em outras doenças neurodegenerativas do sistema nervoso. Além disso, estudos demonstram que o cuminaldeído exerce atividade neuroprotetora ao reduzir o estresse oxidativo e modular vias inflamatórias associadas à neurodegeneração, sugerindo seu potencial terapêutico em doenças neurodegenerativas ao impedir a agregação proteica e diminuir processos inflamatórios neuronais. (Morshedi *et al.*, 2015). O uso concomitante de *Cuminum cyminum* L. e *Nigella sativa* reduzem os danos hepáticos induzidos por cisplatina em ratos, com melhora

bioquímica e histológica, demonstrando mais uma vez a atividade anti-inflamatória (Abbas *et al.*, 2018).

Estudos apontam que o cuminaldeído apresenta propriedades analgésicas e anti-inflamatórias por diferentes mecanismos moleculares e em modelos animais, sendo capazes de modular vias de dor neuropática e visceral (Tom *et al.*, 2014; Koohsari *et al.*, 2020).

Considerando que o dano tecidual e a inflamação por mediadores químicos ativam e sensibilizam nociceptores primários, um processo central na fisiopatologia da dor visceral e da SBD, o cuminaldeído surge como um potencial candidato terapêutico para esta condição, podendo atuar na redução de alodinia e hiperalgesia associadas ao processo de sensibilização central observado em pacientes com SBD.

2.7 Docagem Molecular: Ferramenta no Planejamento de Fármacos

A docagem molecular tem sido amplamente utilizada no planejamento racional de fármacos, permitindo prever a interação entre ligantes e alvos biológicos, identificar modos de ligação, calcular afinidades e compreender interações moleculares relevantes para a atividade farmacológica (Ferreira *et al.*, 2015). Essa ferramenta, integrada ao desenho de fármacos baseado em estrutura, contribui para a identificação de compostos promissores, otimizando tempo e recursos em pesquisas pré-clínicas (Rocha *et al.*, 2018). Métodos computacionais como o AutoDock Vina e AutoDock Tools possibilitam a análise de ligações hidrogênio, interações hidrofóbicas e energias de ligação, sendo úteis na identificação de compostos bioativos que possam modular alvos envolvidos em doenças inflamatórias e dolorosas (Eberhardt *et al.*, 2021; Trott e Olson, 2010).

A utilização de bases de dados estruturais como o Protein Data Bank (PDB) tem possibilitado a realização de estudos de docagem molecular de forma precisa, ao disponibilizar estruturas tridimensionais de proteínas de relevância biológica (Berman *et al.*, 2000). Essa abordagem é essencial no contexto da SBD, considerando que proteínas como CXCR4, CXCR2, TRPV1 e H1R participam ativamente dos processos inflamatórios e da sensibilização nociceptiva associados à SBD (Jiang *et al.*, 2023). Com o uso de ferramentas como AutoDock, torna-se possível prever as interações entre o cuminaldeído e esses alvos, identificando afinidades de ligação, locais de interação e potenciais mecanismos de modulação da inflamação e da dor pélvica crônica, contribuindo para a compreensão do potencial terapêutico do cuminaldeído como coadjuvante no manejo da SBD.

No contexto da SBD, os alvos moleculares identificados pelos códigos PDB 3ODU,

3RZE, 5IRX e 6LFL oferecem uma perspectiva relevante para o estudo do potencial modulador do cuminaldeído sobre vias de inflamação e dor. A proteína representada pelo código 3ODU (CDK2), embora classificada principalmente como reguladora do ciclo celular, está associada à proliferação de células imunológicas, processo intimamente ligado à perpetuação da inflamação em condições crônicas como a SBD. Estudos demonstram que a inibição de CDKs pode reduzir a infiltração de células inflamatórias e, conseqüentemente, a liberação de mediadores pró-inflamatórios, podendo contribuir para a modulação da dor associada (Eberhardt *et al.*, 2021; Berman *et al.*, 2000).

Já a proteína 3RZE (B-RAF) integra a via de sinalização, MAPK/ERK, fundamental na regulação de processos inflamatórios e de remodelamento tecidual, ambos relevantes na fisiopatologia da SBD. Alterações na atividade de B-RAF podem modificar a expressão de citocinas e quimiocinas, impactando diretamente a percepção da dor e a sensibilização neuronal, elementos centrais no quadro clínico da doença (Lappas *et al.*, 2016).

A estrutura 5IRX (GPCR) destaca-se pelo papel central dos receptores acoplados à proteína G na transdução de sinais relacionados à inflamação e à dor, visto que muitos mediadores inflamatórios atuam por meio desses receptores, influenciando a excitabilidade neuronal e a perpetuação da dor crônica. Esta entrada detalha a estrutura de um receptor acoplado à proteína G (GPCR). Embora a 6LFL (Mpro do SARS-CoV-2) seja um alvo viral, a resposta inflamatória exacerbada por infecções sistêmicas pode agravar condições dolorosas pré-existentes, sendo relevante compreender como compostos anti-inflamatórios como o cuminaldeído podem modular a inflamação sistêmica e seus reflexos em condições como a SBD (Eijkelkamo *et al.*, 2010; Ali *et al.*, 2022).

Nesse contexto, a aplicação da docagem molecular ao estudo do cuminaldeído torna-se uma estratégia relevante, permitindo avaliar seu potencial de interação com proteínas relacionadas à inflamação e à dor presentes na SBD. Essa abordagem possibilita prever afinidades e modos de ligação do cuminaldeído com alvos moleculares envolvidos na fisiopatologia, contribuindo para a elucidação de seus mecanismos de ação e reforçando sua investigação como alternativa terapêutica no manejo da SBD.

2.8 Papel das Interleucinas IL-1 β e IL10 na Modulação da Resposta Inflamatória da SBD

As interleucinas desempenham um papel central na fisiopatologia da SBD, atuando como mediadoras pró-inflamatórias que contribuem para a dor e o processo inflamatório crônico na SBD (Gamper *et al.*, 2015; Jiang *et al.*, 2020). Estudos demonstraram níveis elevados de interleucina-6 (IL-6) na urina de pacientes com SBD, sendo sugerida como marcador diagnóstico pela sua associação com a presença de inflamação e sintomas urinários. Além disso, a IL-6 atua na ativação e recrutamento de células inflamatórias, incluindo mastócitos, os quais estão envolvidos no aumento da permeabilidade epitelial e na sensibilização neuronal, processos fundamentais na dor pélvica crônica observada na doença (Lamale *et al.*, 2006).

Outro mediador importante é a interleucina-1 (IL-1), que, ao se ligar ao seu receptor, desencadeia a ativação de vias intracelulares como NF-KB e MAPK, levando à produção de outras citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias contribuindo para o aumento da permeabilidade vascular e dor característica da SBD (Wilson *et al.*, 1994). A modulação dessa via por meio de inibidores da interleukin-1 receptor associated kinase (IRAK) tem sido estudada como estratégia para reduzir a resposta inflamatória em doenças crônicas, inclusive na SBD, dada sua relevância na perpetuação do processo inflamatório (Miller *et al.*, 1993; Bahia *et al.*, 2015).

A interleucina-10 (IL-10) é uma citocina anti-inflamatória crucial na regulação da resposta imune e no controle da inflamação crônica, atuando ao inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , além de reduzir a ativação de macrófagos e mastócitos. Em modelos de SBD, níveis reduzidos de IL-10 têm sido associados ao aumento da inflamação e da dor, sugerindo que a deficiência ou a baixa expressão desta interleucina pode contribuir para a manutenção do ambiente inflamatório na bexiga, perpetuando os sintomas de dor pélvica crônica e disfunção urinária. Estudos demonstram que a modulação de IL-10 está associada a melhorias em modelos de inflamação vesical, com aumento dos níveis de IL-10 correlacionando-se à redução da inflamação e da hipersensibilidade vesical, indicando que estratégias terapêuticas capazes de aumentar a expressão ou a ação de IL-10 podem beneficiar pacientes com SBD. Além disso, IL-10 está relacionada à redução da ativação de vias inflamatórias como NF- κ B, que são relevantes na fisiopatologia da SBD (Cassatella *et al.*, 1993).

Compostos fenólicos semelhantes ao cuminaldeído têm demonstrado, em modelos de

inflamação, a capacidade de elevar os níveis de IL-10, promovendo o equilíbrio entre citocinas pró e anti-inflamatórias e contribuindo para a redução da inflamação e da hipersensibilidade. Dessa forma, é possível que o cuminaldeído atue como adjuvante no manejo da SBD, modulando o perfil inflamatório e potencializando a ação da IL-10, o que pode colaborar para a redução da dor e da inflamação vesical (Demir e Altindag, 2024).

2.9 Micro-RNAs como Biomarcadores Diagnósticos e Alvos Terapêuticos na SBD

A utilização de biomarcadores de base urinária pode ter uma alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico de câncer de bexiga e SBD podendo ajudar na viabilidade do uso do epitélio esfoliado da bexiga para o diagnóstico (Akiyama, 2021 e Gheinani *et al*, 2017). A busca de potenciais biomarcadores para SBD tem sido realizada principalmente com foco nas proteínas de diferenciação urotelial, proteínas proteoglicanas, fatores de crescimento do nervo, citocinas inflamatórias e quimiocinas.

Alguns autores destacam diversos marcadores relevantes para o diagnóstico e tratamento da CI/SBD, como NGF (fator de crescimento do nervo), MIF (fator inibidor de macrófagos), APF (fator antiproliferativo) e HB-EGF (fator de crescimento epitelial ligado a heparina) (Lee *et al*, 2013). Nesse contexto, uma classe emergente e promissora é a dos microRNAs (miRNAs), pequenos RNAs não codificantes que desempenham um papel crucial na regulação da expressão gênica, seja influenciando a tradução e a estabilidade do mRNA, seja modulando a atividade de genes-alvo (Gheinani *et al*, 2017).

Estudo utilizando dados de microarray (GSE11783) contendo perfis de mRNA e miRNA de tecido vesical obtido por biópsia cistoscópica de pacientes com SBD ulcerativa e controles normais, analisados com os softwares Greenspring GX e Ingenuity Pathway Analysis (IPA), identificou uma possível base molecular para a patogênese da SBD e propõe biomarcadores e alvos terapêuticos para seu diagnóstico e tratamento (Liu S, Feng S jian, Luo D, 2018). A investigação de microRNAs na SBD é justificada pelo papel crítico desses reguladores na fisiopatologia da dor crônica, evidenciado em condições como lesões nervosas, doenças inflamatórias e câncer (Arai *et al*, 2018 e Andersen *et al*, 2014).

CAPÍTULO I - ARTIGO PUBLICADO

Micro-RNAs como biomarcadores diagnósticos e alvos terapêuticos na cistite intersticial: revisão integrativa

MicroRNAs as diagnostic biomarkers and therapeutic targets in interstitial cystitis: an integrative review

MicroARNs como biomarcadores diagnósticos y objetivos terapéuticos en la cistitis intersticial: revisión integrativa

DOI: 10.54033/cadpedv22n6-091

Originals received: 3/7/2025
Acceptance for publication: 4/1/2025

Tereza Cristina Monteiro de Melo Prazeres

Mestra em Ciências da Saúde
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: tereza.melo@ufma.br

Alice Marques Moreira Lima

Mestra em Saúde
Instituição: Faculdade de Imperatriz (FACIMP)
Endereço: Imperatriz, Maranhão, Brasil
E-mail: alice.marques@labcedro.com.br

Michelline Joana Tenório Albuquerque Madruga Mesquita

Mestra em Medicina
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: michelline.joana@ufma.br

Rafael Antonio Freire Carvalho

Mestre em Saúde
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: rafael.afc@ufma.br

Taciana Gabrielle Pinheiro de Moura Carvalho

Mestra em Medicina
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: tacionagpmr@hotmail.com

Renata Ferreira de Lima

Mestra em Ciências da Saúde
Instituição: Universidade Ceuma (UNICEUMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: renata.flima@outlook.com

Larissa Rodrigues de Sousa

Licenciada em Ciências Biológicas
Instituição: Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: larissa.rsousa@outlook.com

Rafael França Lima

Bacharel em Ciências Biológicas
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: 1rafaelfrancalima@gmail.com

Isabella Barreto Froz

Graduanda em Medicina
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil.
E-mail: isabella.froz@discente.ufma.br

Wesley do Nascimento Silva

Graduando em Medicina
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil.
E-mail: wn.silva@discente.ufma.br

Amanda Tissore Forwille Reis

Graduanda em Farmácia
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil.
E-mail: amanda.forwille@discente.ufma

João Batista Santos Garcia

Doutor em Medicina
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: jbgarcia@uol.com.br

Marcelo Souza de Andrade

PhD em Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil.
E-mail: Marcelo.andrade@ufma.br

Maria do Socorro de Sousa Cartagenes

Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: cartagenes.maria@ufma.br

RESUMO

A cistite intersticial/síndrome da bexiga dolorosa (CI/SBD) é uma condição crônica de etiologia desconhecida, caracterizada por dor pélvica e sintomas urinários irritativos. O diagnóstico é desafiador, geralmente realizado por exclusão de outras condições utilização de exames invasivos. Nesse contexto, os microRNAs (miRNAs) surgem como potenciais biomarcadores diagnósticos e alvos terapêuticos promissores. A revisão utilizou bases de dados científicas (PubMed, Web of Science, Scopus e SciELO) para identificar estudos publicados entre 2014 e 2024. Foram selecionados 12 artigos que analisaram a expressão de miRNAs na CI/SBD em modelos experimentais e em amostras de pacientes. Os estudos revisados apontam diversos miRNAs como potenciais biomarcadores e alvos terapêuticos para CI/SBD. A desregulação da expressão de miRNAs está associada à inflamação crônica, remodelação vesical e dor neuropática na CI/SBD. MiR-132, miR-495 e miR-34c foram associados à modulação de vias inflamatórias, enquanto miR-205 demonstrou impacto na integridade do epitélio urotelial. Além disso, exossomos enriquecidos com miR-9 apontaram potencial terapêutico na redução da intensidade da dor. Os artigos obtidos como resultados destacam o papel crítico dos miRNAs na fisiopatologia do CI/SBD, revelando sua aplicabilidade como biomarcadores e alvos terapêuticos inovadores. Estudos futuros são necessários para validar esses marcadores e viabilizar sua implementação clínica, melhorando o diagnóstico precoce e o manejo da doença.

Palavras-chave: Cistite Intersticial. Síndrome da Bexiga Dolorosa. MicroRNAs. Biomarcadores. Terapia Gênica.

ABSTRACT

Interstitial cystitis/painful bladder syndrome (IC/PBS) is a chronic condition of unknown etiology, characterized by pelvic pain and irritative urinary symptoms. Diagnosis is challenging, usually made by excluding other conditions, using invasive tests. In this context, microRNAs (miRNAs) have emerged as potential diagnostic biomarkers and promising therapeutic targets. This review utilized scientific databases (PubMed, Web of Science, Scopus, and SciELO) to identify studies published between 2014 and 2024. Twelve articles were selected that analyzed miRNA expression in IC/PBS using experimental models and patient samples. The reviewed studies identified several miRNAs as potential biomarkers and therapeutic targets for IC/PBS. Dysregulated miRNA expression has been associated with chronic inflammation, bladder remodeling, and neuropathic pain in IC/PBS. The MiR-132, miR-495, and miR-34c were linked to the modulation of inflammatory pathways, while miR-205 demonstrated an impact on urothelial epithelial integrity. Additionally, miR-9-enriched exosomes

showed therapeutic potential in reducing pain and symptom intensity. The articles obtained as results highlight the critical role of miRNAs in the pathophysiology of IC/PBS, revealing their applicability as innovative biomarkers and therapeutic targets. Future studies are necessary to validate these markers and enable their clinical implementation, improving early diagnosis and disease management.

Keywords: Interstitial Cystitis. Painful Bladder Syndrome. MicroRNAs. Biomarkers. Gene Therapy.

RESUMEN

La cistitis intersticial/síndrome de vejiga dolorosa (CI/SVD) es una condición crónica de etiología desconocida, caracterizada por dolor pélvico y síntomas urinarios irritativos. El diagnóstico es un desafío, generalmente realizado por exclusión de otras condiciones, utilizando exámenes invasivos. En este contexto, los microRNAs (miRNAs) han surgido como potenciales biomarcadores diagnósticos y prometedores objetivos terapéuticos. Esta revisión utilizó bases de datos científicas (PubMed, Web of Science, Scopus y SciELO) para identificar estudios publicados entre 2014 y 2024. Se seleccionaron doce artículos que analizaron la expresión de miRNAs en CI/SVD mediante modelos experimentales y muestras de pacientes. Los estudios revisados identificaron varios miRNAs como potenciales biomarcadores y objetivos terapéuticos para la CI/SVD. La desregulación de la expresión de miRNAs se ha asociado con inflamación crónica, remodelación vesical y dolor neuropático en la CI/SVD. El MiR-132, miR-495 y miR-34c fueron relacionados con la modulación de vías inflamatorias, mientras que miR-205 mostró impacto en la integridad del epitelio urotelial. Además, los exosomas enriquecidos con miR-9 demostraron potencial terapéutico en la reducción del dolor y la intensidad de los síntomas. Los artículos obtenidos como resultados destacan el papel crítico de los miRNAs en la fisiopatología de la CI/SVD, revelando su aplicabilidad como biomarcadores innovadores y objetivos terapéuticos. Se requieren estudios futuros para validar estos marcadores y permitir su implementación clínica, mejorando el diagnóstico precoz y el manejo de la enfermedad.

Palabras clave: Cistitis Intersticial. Síndrome de Vejiga Dolorosa. MicroRNAs. Biomarcadores. Terapia Génica.

1 INTRODUÇÃO

A cistite intersticial ou síndrome da bexiga dolorosa (CI/SBD) é uma condição crônica de etiologia desconhecida, caracterizada por desconforto ou dor pélvica, associada a aumento da frequência urinária, urgência e nictúria (Hanno *et al.*, 2015; Cheng *et al.*, 2012). Apresenta sintomas inespecíficos

próprios da condição inflamatória crônica e geralmente está associada a outras doenças crônicas (Chung *et al.*, 2015).

A etiologia e fisiopatologia permanecem indefinidas com muitas hipóteses diagnósticas, dentre as mais citadas temos a lesão do epitélio da bexiga e aumento da permeabilidade da barreira urotelial, inflamação neurogênica com infiltração de mastócitos e provável envolvimento autoimune (Clemens *et al.*, 2022). Além da complexidade da apresentação clínica, do atraso e dificuldade para o diagnóstico, as opções terapêuticas são atualmente limitadas, portanto a doença permanece como um desafio para pacientes, médicos e pesquisadores.

A ausência de biomarcadores específicos faz com que o diagnóstico seja realizado por exclusão de outras condições; frequentemente exigindo exames invasivos, como cistoscopia com biópsia vesical e estudo urodinâmico, que além de desconfortáveis, não garantem precisão diagnóstica. Assim, a ausência de ferramentas diagnósticas não invasivas reforça a necessidade de investigar biomarcadores que possam auxiliar no diagnóstico e tratamento da CI/SBD.

Com base nessa perspectiva, o presente estudo tem relevância teórica ao oferecer uma visão abrangente da literatura sobre o papel dos microRNAs na cistite intersticial/síndrome da bexiga dolorosa (CI/SBD), buscando compreender os mecanismos moleculares subjacentes e identificar novos indicadores diagnósticos e alvos terapêuticos. Do ponto de vista prático, pode impactar positivamente a abordagem clínica da CI/SBD, fornecendo uma alternativa diagnóstica menos invasiva e potencialmente mais precisa.

Nesse contexto, este artigo propõe os miRNAs como biomarcadores alternativos para a identificação de alterações vesicais precoces na cistite intersticial. A proposta se alinha a uma necessidade científica de identificar mecanismos biológicos mais específicos associados à doença, o que pode ampliar o conhecimento sobre sua fisiopatologia e favorecer o desenvolvimento de estratégias diagnósticas mais eficazes, melhorando a qualidade de vida dos pacientes e contribuindo tanto para a prática clínica quanto para o avanço do conhecimento científico na área.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A utilização de biomarcadores de base urinária pode ter uma alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico de câncer de bexiga e CI/SBD, podendo ajudar na viabilidade do uso do epitélio esfoliado da bexiga para o diagnóstico (Jiang *et al.*, 2022; Lu *et al.*, 2021). A busca de potenciais biomarcadores para CI/SBD tem sido realizada principalmente com foco nas proteínas de diferenciação urotelial, proteínas proteoglicanas, fatores de crescimento do nervo, citocinas inflamatórias e quimiocinas.

Alguns autores destacam diversos marcadores relevantes para o diagnóstico e tratamento da CI/SBD, como NGF (fator de crescimento do nervo), MIF (fator inibidor de macrófagos), APF (fator antiproliferativo) e HB-EGF (fator de crescimento epitelial ligado à heparina) (Winder *et al.*, 2014; Zoglam *et al.*, 2022). Nesse contexto, uma classe emergente e promissora é a dos microRNAs (miRNAs), pequenos RNAs não codificantes que desempenham um papel crucial na regulação da expressão gênica, seja influenciando a tradução e a estabilidade do mRNA, seja modulando a atividade de genes-alvo (Hashemi *et al.*, 2015).

Estudo utilizando dados de microarray (GSE11783) contendo perfis de mRNA e miRNA de tecido vesical obtido por biópsia cistoscópica de pacientes com CI/SBD ulcerativa e controles normais, analisados com os softwares Greenspring GX e Ingenuity Pathway Analysis (IPA), identificou uma possível base molecular para a patogênese da CI/SBD e propõe biomarcadores e alvos terapêuticos para seu diagnóstico e tratamento (Liu *et al.*, 2019).

A investigação de microRNAs na cistite intersticial é justificada pelo papel crítico desses reguladores na fisiopatologia da dor crônica, evidenciado em condições como lesões nervosas, doenças inflamatórias e câncer (Sakai E Suzuki, 2014; Chung *et al.*, 2014; Braicu *et al.*, 2015)

3 METODOLOGIA

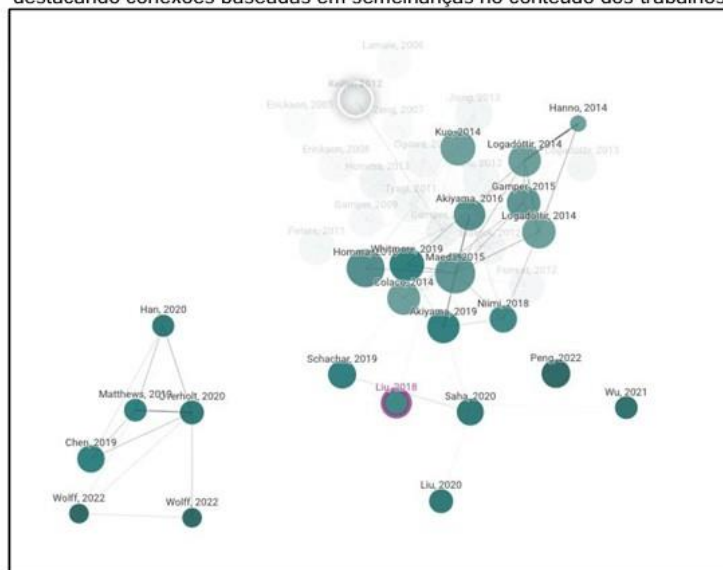
O estudo foi orientado pelas seguintes questões centrais: os microRNAs podem atuar como biomarcadores promissores e alvos terapêuticos para a cistite intersticial? Além disso, existem biomarcadores urinários com elevada sensibilidade e especificidade capazes de aprimorar o diagnóstico de CI/SBD?

3.1 FONTE DE DADOS E ESTRATÉGIA DE BUSCA

As publicações foram identificadas por busca eletrônica em quatro bases de dados (PubMed, Web of Science, Scopus e SciELO) explorando métodos diagnósticos e opções terapêuticas em modelos experimentais *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo* de CI/SBD. Usamos os seguintes termos de pesquisa: "interstitial cystitis" OR "painful bladder syndrome" OR "IC/BPS" AND "gene expression" AND "biomarker" AND "miRNA" AND "molecular pathogenesis" em diferentes combinações. Apenas artigos de texto completo em inglês, publicados de janeiro de 2014 a 31 de julho de 2024 foram incluídos.

Os artigos foram selecionados a partir de bases de dados científicas e também por meio da ferramenta *Connect Papers*, que utiliza algoritmos baseados em aprendizado de máquina e permite a identificação de estudos relacionados com base em citações e similaridade temática (Figura 1).

Figura 1. Rede de artigos científicos relacionados ao tema 'cistite intersticial' e 'microRNA', destacando conexões baseadas em semelhanças no conteúdo dos trabalhos.



Fonte: Elaborado pelos autores a partir de artigos pesquisados no *Connect Papers*.

3.2 COLETA E EXTRAÇÃO DE DADOS

Os artigos foram revisados em um processo de duas etapas. A primeira etapa incluiu a triagem dos títulos e resumos de todos os artigos identificados publicados nos últimos 10 anos. Foram excluídos artigos não escritos em inglês, artigos irrelevantes que descrevem outras doenças e não CI/SBD, artigos que não incluíam agentes terapêuticos ou métodos diagnósticos. Para a remoção dos artigos duplicados, organização e gerenciamento das referências, utilizou-se o software *Zotero*, que permite a catalogação e citação automática dos estudos selecionados.

Na segunda etapa, foram avaliados os textos completos dos estudos selecionados. A lista de referência dos estudos mais relevantes também foi selecionada para identificar quaisquer outros estudos potencialmente elegíveis. De cada estudo foram registradas as seguintes informações: autor, ano, título, microRNA estudado, objetivo e resultados.

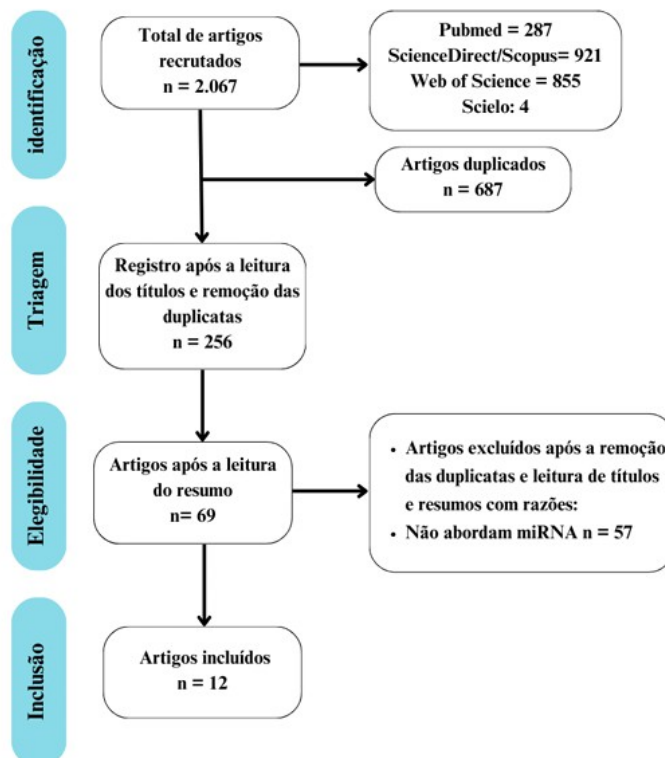
Os artigos foram avaliados por dois revisores independentes, atendendo aos critérios de inclusão com seleção dos artigos finais que foram incluídos neste estudo.

4 RESULTADOS

Após a identificação dos artigos seguindo os critérios de inclusão e exclusão listados anteriormente, inicialmente observou-se um total de 2.067 artigos, com a utilização das palavras-chave pré-definidas na metodologia deste estudo. Destes, 287 foram encontrados na base de dados PubMed, 921 na Scopus, na Web of Science 855 e 4 na SciELO (Figura 2).

Contudo, posteriormente foram analisados em relação ao título e remoção das duplicatas, reduzindo significativamente o número anterior para 256 artigos, e após a leitura dos resumos foram selecionados apenas 69. Em seguida, como último método para inclusão ou exclusão de artigos, foi realizada uma leitura detalhada dos 69 artigos, dos quais foram selecionados apenas 12 artigos, publicados no período de 2014 a 2024, os quais oferecem contribuições substanciais para esse tema de relevância.

Figura 2. Fluxograma de seleção de estudos na revisão.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Os resultados deste estudo, conforme delineados no Quadro 1, estão em consonância com a abordagem e satisfazem todos os critérios de seleção estabelecidos.

Quadro 1. Estudos selecionados que abordam os temas cistite intersticial e microRNA, de acordo com critérios de inclusão e exclusão.

Nº	Autor e ano	Título	microRNA	Objetivo	Resultados
1	Song et al., 2019	Inhibition of microRNA-132 attenuates inflammatory response and detrusor fibrosis in rats with interstitial cystitis via the JAK-	miR-132	Determinar qual o efeito do miR-132 na resposta inflamatória e na fibrose do detrusor na CI/SBD por meio da via de sinalização JAK-STAT	Regulação negativa do miR-132 alivia a resposta inflamatória e a fibrose do detrusor na CI/SBD por meio da inibição da via de sinalização JAK-STAT

		STAT signaling pathway			
2	Gheinani et al., 2021	Integrated mRNA-miRNA transcriptome analysis of bladder biopsies from patients with bladder pain syndrome identifies signaling alterations contributing to the disease pathogenesis	miR-424-5p, miR-34a-5p, miR-205-5p, miR-145-5p, miR-143-3p e miR-133a-3p	Desvendar os processos biológicos e as vias de sinalização celular desreguladas que levam à remodelação da bexiga na forma não ulcerativa da CI/SBD, estudando as alterações da expressão gênica nas biópsias dos pacientes com diagnóstico de cistite intersticial	A análise integrada dos transcriptomas de mRNA-miRNA delineou o papel regulador dos miRNAs desregulados identificando seus alvos nas vias induzidas pela doença. As mudanças moleculares observadas na organização e desenvolvimento do sistema nervoso periférico indicam o papel potencial da inervação local da bexiga na dor percebida neste tipo de CI/SBD
3	Liu et al, 2019	Analysis of key genes and micro-RNA-mRNA regulatory networks in women with ulcerative interstitial cystitis/pain bladder syndrome	miR-21, miR-4435-2HG e miR-155HG e miR-205HG	Entender melhor a cistite intersticial ulcerativa/síndrome da bexiga dolorosa (CI/SBD) em nível molecular e fornecer novas pistas relacionadas ao diagnóstico e tratamento	MicroRNAs regulados positivamente, como miR-21, miR-4435-2HG e miR-155HG e miR-205HG regulado negativamente, foram identificados como microRNAs-chave em CI/SBD
3	Yang et al., 2023	Identification of circRNA-miRNA-mRNA network as biomarkers for interstitial cystitis/bladder pain syndrome	miR-486-3pe miR-20b-5p	Propor uma nova estratégia diagnóstica e terapêutica para CI/SBD, investigando o papel do circRNA ou miRNA nessa condição, em amostras de pacientes com CI/SBD para sequenciamento de alto rendimento	Os dados de qPCR indicaram um aumento estatisticamente significativo em hsa-miR-486-3P e hsa-miR-20b-5P, o que é consistente com os resultados de sequenciamento e sua estabilidade e especificidade tecidual sugerem seu potencial como biomarcadores para CI/SBD
4	Mandal et al., 2024	Inhibition of microRNA-34c reduces detrusor ROCK2 expression and urinary bladder inflammation in experimental cystitis	miR-34c	Determinar um mecanismo de como a inibição do miR-34c media a resposta inflamatória da bexiga durante a cistite	Os achados descrevem que a inibição de miR-34c reduz os marcadores inflamatórios (STAT3, ERK e TGF- β 1) para suprimir a inflamação na CI/SBD. Esses dados abrem caminho para estudos mais aprofundados sobre a possibilidade de terapêuticas de miR-34c para CI/SBD e outros modelos inflamatórios
5	Arai, et al 2018	Molecular pathogenesis of interstitial cystitis based on microRNA expression signature: miR-320	miR-320a, miR-320b, miR-320c, miR-320d e miR-320e	Explorar a patogênese molecular da CI/SBD com base na expressão de	A regulação aberrante dos miRNAs, particularmente da família miR-320, desempenha um papel importante na patogênese da cistite intersticial e pode servir como base para o desenvolvimento

		family-regulated molecular pathways and targets		microRNAs (miRNAs)	de novos tratamentos e métodos de diagnóstico
6	Ciszek et al., 2014	MicroRNA expression profiles differentiate chronic pain condition subtypes	miR-205	Investigar como perfis de expressão de microRNAs (miRNAs) podem diferenciar subtipos de condições de dor crônica	Diferentes perfis de expressão de miRNAs foram associados a características clínicas específicas dos subtipos de dor, sugerindo que esses perfis podem ser ferramentas valiosas para entender os mecanismos subjacentes de condições de dor localizada versus dor disseminada e para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais personalizadas
7	Cui et al., 2024	MiR-9-enriched mesenchymal stem cells derived exosomes prevent cystitis-induced bladder pain via suppressing TLR4/NLRP3 pathway in interstitial cystitis mice	MiR-9	Investigar o uso de exossomos derivados de células-tronco mesenquimais (MSCs) enriquecidos com miR-9 para o tratamento da dor vesical induzida por cistite	Os exossomos enriquecidos com miR-9 atenuaram a ativação das células gliais e reduziram as respostas inflamatórias sistêmicas e centrais mediadas pelo TLR4. O estudo sugere que exossomos enriquecidos com miR-9 derivados de MSCs podem ser uma estratégia promissora para aliviar a dor vesical induzida por cistite, oferecendo um novo caminho terapêutico para o tratamento de CI/SBD através da inibição da via TLR4/NLRP3
8	Hashemi et al., 2015	MicroRNA MiR-199a-5p regulates smooth muscle cell proliferation and morphology by targeting WNT2 signaling pathway	MiR-199a-5p	Investigar o papel do microRNA miR-199a-5p na regulação da proliferação e morfologia de células musculares lisas da bexiga	O miR-199a-5p regula criticamente a proliferação e a morfologia das células musculares lisas da bexiga, controlando a via de sinalização WNT2. Suas funções são importantes para o remodelamento do músculo liso em condições patológicas, sugerindo que poderia ser um alvo terapêutico em doenças relacionadas à disfunção do trato urinário inferior
9	Hou et al., 2021	MicroRNA-495 alleviates ulcerative interstitial cystitis via inactivating the JAK-STAT signaling pathway by inhibiting JAK3	MicroRNA-495	Investigar o papel do microRNA-495 (miR-495) na cistite intersticial ulcerativa (CI)	O estudo sugere que a superexpressão de miR-495 pode ser uma estratégia eficaz para reduzir a inflamação e a fibrose vesical em casos de cistite intersticial ulcerativa, agindo por meio da inativação da via de sinalização JAK-STAT pela inibição de JAK3
10	Jiang et al., 2022	CircTHBS1 Facilitates the progression of interstitial cystitis depending on the regulation of miR-139-5p/MFN2 Axis	miR-139-5p	Investigar o papel do RNA circular (circRNA) circTHBS1 na progressão da cistite intersticial CI/SBD. O estudo explora como o circTHBS1 regula a progressão da CI/SBD através do eixo miR-139-5p/MFN2	CircTHBS1 atua como uma esponja para miR-139-5p, que por sua vez regula negativamente a expressão de MFN2. MiR-139-5p, quando aumentado, pode reverter os efeitos de promoção de circTHBS1 na proliferação e migração celular, indicando que circTHBS1 facilita a progressão da CI/SBD ao regular o eixo miR-139-5p/MFN2
11	Kumar et al., 2021	Differential expression of microRNAs correlates with the	miR-146a, -181, -1931, e -5112	Investigar a expressão diferencial de microRNAs (miRs)	O estudo demonstra que a expressão diferencial de miRs específicos está associada à gravidade da cistite autoimune experimental. Estes miRs podem servir

		severity of experimental autoimmune cystitis		em relação à gravidade da cistite autoimune experimental (CAE), um modelo de cistite intersticial em camundongos	como biomarcadores potenciais e alvos terapêuticos para CI/SBD, destacando a necessidade de mais pesquisas para entender seus papéis regulatórios na progressão da doença
12	Chung et al., 2014	MicroRNA-205 targets tight junction-related proteins during urothelial cellular differentiation	miR - 205	Investigar como o miR-205 modula a expressão de proteínas associadas a junções de oclusão durante a diferenciação celular urotelial	O miR-205 desempenha um papel crucial na regulação da diferenciação urotelial ao modular a expressão de proteínas relacionadas a junções de oclusão. A manipulação da expressão de miR-205 pode influenciar a formação e manutenção das junções celulares e a integridade da membrana, impactando potencialmente processos de cicatrização e respostas inflamatórias no urotélio

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

5 DISCUSSÃO

Os achados corroboram estudos anteriores que demonstraram alterações na expressão de miRNAs em amostras de tecido vesical e urina de pacientes com CI/SBD. Liu *et al.* (2019) identificaram redes regulatórias entre miRNAs e mRNAs em mulheres com CI/SBD ulcerativa, sugerindo que esses pequenos RNAs desempenham um papel essencial na patogênese da doença. De forma similar, Gheinani *et al.* (2021) observaram que a expressão diferencial de miRNAs em bexigas de pacientes com CI/SBD não ulcerativa está associada à remodelação tecidual e ao desenvolvimento da dor crônica.

A influência dos miRNAs na integridade do urotélio também foi abordada em estudos anteriores. Chung *et al.* (2014) demonstraram que o miR-205 regula a expressão de proteínas associadas às junções de oclusão durante a diferenciação urotelial. A desregulação dessas proteínas pode comprometer a barreira urotelial, um dos principais mecanismos sugeridos na fisiopatologia da CI/SBD.

Dado o caráter multifatorial e a ausência de métodos diagnósticos não invasivos precisos, o perfil gênico apresentado em pacientes com CI/SBD, em comparação aos controles, demonstra a associação da expressão gênica à capacidade vesical (Peng *et al.*, 2021; Karamali *et al.*, 2019). Além disso, as alterações moleculares observadas na organização e no desenvolvimento do

sistema nervoso periférico indicam o papel potencial da inervação local da bexiga e na dor percebida (Andersen *et al.*, 2014; Ceiszek *et al.*, 2015). Essa abordagem inovadora também sugere que a expressão gênica pode estar intrinsecamente ligada a processos inflamatórios, considerando a infiltração de neutrófilos e mastócitos observados nos pacientes, além de sua baixa capacidade vesical, fatores que podem atuar como marcadores importantes no diagnóstico e manejo da CI/SBD (Kumar *et al.*, 2021).

Liu *et al.* (2019) sugeriu uma possível base molecular da patogênese da CI/SBD, bem como potenciais biomarcadores e alvos terapêuticos para diagnóstico e tratamento da CI/SBD ulcerativa ao analisar o conjunto de dados de microarray GSE11783, incluindo os perfis de mRNA e miRNA do tecido vesical obtidos por biópsia cistoscópica de pacientes com CI/SBD ulcerativa e controles saudáveis. O fato dos perfis gênicos de mRNA e miRNA apresentarem diferenças importantes em comparação aos controles sugere que os eventos de sinalização mediados por miRNAs podem desempenhar um papel crucial na patogênese desse fenótipo. Assim, essas descobertas não apenas aprofundam o conhecimento sobre os mecanismos moleculares da CI/SBD, mas também abrem novas possibilidades para o desenvolvimento de intervenções baseadas em RNA (Yang *et al.*, 2023).

Os perfis de expressão emparelhados de miRNA e mRNA em biópsias de bexiga de pacientes com CI/SBD do tipo não ulcerativa, utilizando sequenciamento de próxima geração demonstrou que a ativação das vias imunológicas foi modesta, limitada à quimiotaxia de neutrófilos e sinalização mediada por IFN- γ , quando comparada à forma ulcerativa, porém houve ativação significativa das vias de sinalização EIF2 e da regulação de eIF4 e p70S6K, que respondem ao estresse celular e também da via de biossíntese de leucotrienos, importante em doenças inflamatórias e dor neuropática (Gheinani *et al.*, 2021).

Os estudos revisados indicam que diferentes miRNAs estão envolvidos em processos fisiopatológicos centrais da CI/SBD, como inflamação crônica, remodelação vesical e regulação gênica. Outro ponto relevante é a associação entre miRNAs e vias inflamatórias específicas. Song *et al.* (2019) demonstraram que a inibição do miR-132 reduz a inflamação e a fibrose do detrusor via

sinalização JAK-STAT. Hou *et al.* (2021) reforçam essa observação, mostrando que a superexpressão do miR-495 inativa a via JAK-STAT, levando a uma redução da resposta inflamatória na CI/SBD ulcerativa. Esses resultados sugerem que a modulação de vias inflamatórias mediadas por miRNAs pode representar um caminho promissor para o desenvolvimento de novas terapias.

Outros miRNAs, como o miR-205, demonstraram relevância na regulação de proteínas de junção celular, destacando sua contribuição para a manutenção da integridade do epitélio urotelial, cuja disfunção é uma das hipóteses centrais para a etiologia da CI/SBD (Mandal *et al.*, 2024).

Os estudos mais recentes também apontam para novas abordagens terapêuticas baseadas em miRNAs. Cui *et al.* (2024) descreveram que exossomos enriquecidos com miR-9 derivados de células-tronco mesenquimais foram capazes de reduzir a inflamação vesical e melhorar os sintomas de dor em um modelo experimental de CI/SBD. Esses achados reforçam o potencial dos miRNAs não apenas como biomarcadores, mas também como alvos terapêuticos.

A modulação das vias inflamatórias e contráteis, associadas à dor e disfunção vesical, sugere que o miR-34c pode ser um alvo eficaz para tratar a CI/SBD. Merece destaque o potencial terapêutico do miR-34c na prevenção da CI/SBD, indicando que a redução de marcadores imunológicos como STAT3, ERK, CREB, TGF- β 1, VEGF e ROCK2 pode aliviar os sintomas da CI/SBD e restaurar a função da bexiga. Esses fatores estão diretamente ligados a processos inflamatórios e alterações na contratilidade do músculo liso da bexiga, contribuindo para os sintomas da CI/SBD, como a dor e a disfunção vesical. A supressão dessas vias, observada com o antagonismo do miR-34c, pode não apenas aliviar a inflamação local, mas também restaurar a função normal da bexiga, oferecendo uma nova perspectiva terapêutica para essa condição (Arai *et al.*, 2018).

Um ponto crítico observado é a especificidade tecidual e estabilidade dos miRNAs, que tornam esses biomarcadores viáveis para aplicações clínicas, como demonstrado pelo aumento de hsa-miR-486-3P e hsa-miR-20b-5P em pacientes com CI/SBD (Cui *et al.*, 2024).

6 CONCLUSÃO

Os achados desta revisão integrativa reforçam a importância dos microRNAs como potenciais biomarcadores diagnósticos e alvos terapêuticos na cistite intersticial/síndrome da bexiga dolorosa (CI/SBD), uma vez que os estudos analisados indicam que diferentes miRNAs estão envolvidos na regulação de vias inflamatórias, remodelação vesical e na dor neuropática associada à doença. No entanto, desafios ainda precisam ser superados para que essas descobertas sejam aplicadas clinicamente. A falta de padronização na coleta e análise de amostras, bem como a necessidade de estudos longitudinais e ensaios clínicos, são algumas das limitações identificadas. Além disso, uma limitação com a pesquisa seria a ausência de muitos miRNAs a serem investigados e que já foram testados em análise de expressão gênica ou epigenética.

Dessa forma, a investigação de miRNAs na CI/SBD representa um campo emergente e promissor, com potencial para aprimorar o diagnóstico e o manejo da doença. Estudos futuros devem priorizar a validação de miRNAs como biomarcadores clínicos e explorar seu potencial terapêutico por meio da modulação de sua expressão, visando avanços no diagnóstico e no tratamento da cistite intersticial/síndrome da bexiga dolorosa.

REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, H. H.; DUROUX, M.; GAZERANI, P. **MicroRNAs as modulators and biomarkers of inflammatory and neuropathic pain conditions.** *Neurobiology of Disease*, v. 71, p. 159-168, 2014. DOI: 10.1016/j.nbd.2014.08.003.
- ARAI, T. *et al.* **Molecular pathogenesis of interstitial cystitis based on microRNA expression signature: miR-320 family-regulated molecular pathways and targets.** *Journal of Human Genetics*, v. 63, n. 5, p. 543-554, 2018. DOI: 10.1038/s10038-018-0419-x.
- BRAICU, C. *et al.* **Clinical and pathological implications of miRNA in bladder cancer.** *International Journal of Nanomedicine*, v. 10, p. 791-800, 2015. DOI: 10.2147/IJN.S72904.
- CHENG, C.; ROSAMILIA, A.; HEALEY, M. **Diagnosis of interstitial cystitis/bladder pain syndrome in women with chronic pelvic pain: a prospective observational study.** *International Urogynecology Journal*, v. 23, n. 10, p. 1361-1366, 2012. DOI: 10.1007/s00192-012-1711-5.
- CHUNG, P. J. *et al.* **MicroRNA-205 targets tight junction-related proteins during urothelial cellular differentiation.** *Molecular & Cellular Proteomics*, v. 13, n. 9, p. 2321-2336, 2014. DOI: 10.1074/mcp.M113.033563.
- CHUNG, S. D. *et al.* **Correlation between bladder pain syndrome/interstitial cystitis and pelvic inflammatory disease.** *Medicine (Baltimore)*, v. 94, n. 46, p. e1878, 2015. DOI: 10.1097/MD.0000000000001878.
- CISZEK, B. P. *et al.* **MicroRNA expression profiles differentiate chronic pain condition subtypes.** *Translational Research*, v. 166, n. 6, p. 706-720.e11, 2015. DOI: 10.1016/j.trsl.2015.06.008.
- CLEMENS, J. Q. *et al.* **Diagnosis and treatment of interstitial cystitis/bladder pain syndrome.** *The Journal of Urology*, v. 208, n. 1, p. 34-42, 2022. DOI: 10.1097/JU.0000000000002756.
- CUI, X. *et al.* **MiR-9-enriched mesenchymal stem cells derived exosomes prevent cystitis-induced bladder pain.** *Immunology & Inflammation Diseases*, v. 12, n. 2, p. e1140, 2024. DOI: 10.1002/iid3.1140.
- GHEINANI, A. H. *et al.* **Integrated mRNA-miRNA transcriptome analysis of bladder biopsies from patients with bladder pain syndrome identifies signaling alterations contributing to the disease pathogenesis.** *BMC Urology*, v. 21, n. 1, p. 172, 2021. DOI: 10.1186/s12894-021-00934-0.
- HANNO, P.; ERICKSON, D.; MOLDWIN, R.; FARADAY, M. **Diagnosis and treatment of interstitial cystitis/bladder pain syndrome: AUA guideline amendment.** *The Journal of Urology*, v. 193, n. 5, p. 1545-1553, 2015. DOI: 10.1016/j.juro.2015.01.086.

HASHEMI GHEINANI, A. *et al.* **MicroRNA MiR-199a-5p regulates smooth muscle cell proliferation and morphology by targeting WNT2 signaling pathway.** *Journal of Biological Chemistry*, v. 290, n. 11, p. 7067-7086, 2015. DOI: 10.1074/jbc.M114.618694.

HOU, Y.; LI, H.; HUO, W. **MicroRNA-495 alleviates ulcerative interstitial cystitis via inactivating the JAK-STAT signaling pathway by inhibiting JAK3.** *International Urogynecology Journal*, v. 32, n. 5, p. 1253-1263, 2021. DOI: 10.1007/s00192-020-04593-x.

JIANG, C. *et al.* **CircTHBS1 facilitates the progression of interstitial cystitis depending on the regulation of miR-139-5p/MFN2 axis.** *Drug Development Research*, v. 83, n. 2, p. 351-361, 2022. DOI: 10.1002/ddr.21864.

KARAMALI, M. *et al.* **Molecular pathogenesis of interstitial cystitis/bladder pain syndrome based on gene expression.** *Journal of Cellular Physiology*, v. 234, n. 8, p. 12301-12308, 2019. DOI: 10.1002/jcp.28009.

KUMAR, V. *et al.* **Differential expression of microRNAs correlates with the severity of experimental autoimmune cystitis.** *Frontiers in Immunology*, v. 12, p. 716564, 2021. DOI: 10.3389/fimmu.2021.716564.

LU, K. *et al.* **Identification of novel biomarkers in Hunner's interstitial cystitis using the CIBERSORT, an algorithm based on machine learning.** *BMC Urology*, v. 21, n. 1, p. 109, 2021. DOI: 10.1186/s12894-021-00875-8.

MANDAL, A. *et al.* **Inhibition of microRNA-34c reduces detrusor ROCK2 expression and urinary bladder inflammation in experimental cystitis.** *Life Sciences*, v. 336, p. 122317, 2024. DOI: 10.1016/j.lfs.2023.122317.

CAPÍTULO II- ARTIGO ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO

CUMINALDEHYDE AS A THERAPEUTIC ALTERNATIVE FOR INTERSTITIAL CYSTITIS: EVALUATION OF ANTI-INFLAMMATORY AND IMMUNOMODULATORY PROPERTIES IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF CYCLOPHOSPHAMIDE-INDUCED CYSTITIS

PAPER DESCRIPTION

- Cuminaldehyde is a natural phenolic compound with recognized anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory properties. Previous studies have demonstrated its biological activity in various experimental models of inflammation and pain, but its effects on bladder inflammatory disorders, such as interstitial cystitis, have not yet been explored.
- This study evaluated the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of cuminaldehyde in a cyclophosphamide-induced experimental model of interstitial cystitis in rats. The research combined molecular docking analysis to predict interactions with inflammation-related proteins and in vivo assessments, including behavioral pain tests, cytokine quantification, mast cell counts, microRNA expression analysis, and bladder histopathology.
- The results revealed that cuminaldehyde significantly reduced pro-inflammatory cytokine (IL-1 β) levels, increased anti-inflammatory cytokine (IL-10), and decreased mast cell infiltration in bladder tissue. The treatment also preserved bladder histological architecture and showed a trend toward reduced nociceptive behaviors, particularly at the dose of 5 mg/kg. These findings provide the first experimental evidence of cuminaldehyde's uroprotective effects in interstitial cystitis.
- This work highlights cuminaldehyde as a promising natural compound for modulating inflammatory and immune responses in bladder inflammatory conditions. It contributes to the growing body of research on phytotherapeutic alternatives for the treatment of interstitial cystitis and offers a basis for future investigations into its therapeutic potential in urological and inflammatory diseases.



Serbian Biological Society

Archives of Biological Sciences

**CUMINALDEHYDE AS A THERAPEUTIC ALTERNATIVE FOR
INTERSTITIAL CYSTITIS: EVALUATION OF ANTI-
INFLAMMATORY AND IMMUNOMODULATORY PROPERTIES IN
AN EXPERIMENTAL MODEL OF CYCLOPHOSPHAMIDE-INDUCED
CYSTITIS**

Tereza Cristina Monteiro de Melo Prazeres, Renata Ferreira de Lima, Rafael Antonio Carvalho Freire, Taciana Gabrielle Pinheiro de Moura Carvalho, Larissa Rodrigues de Sousa, Rafael França Lima, Rafael Cardoso Carvalho, Gustavo Medeiros Frota, Wesley do Nascimento Silva, Isabella Barreto Froz, Michelline Joana Tenório Albuquerque Madruga Mesquita, Joicy Cortez de Sá Sousa, Marcelo Souza de Andrade, Maria do Socorro de Sousa Cartagenes.

Author 1

Tereza Cristina Monteiro de Melo Prazeres
PhD student in Biotechnology - Renorbio – Federal University of Maranhão (UFMA)
Address: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: tereza.melol@ufma.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2117-9914>

Author 2

Renata Ferreira de Lima
Master in Health Sciences - Federal University of Maranhão (UFMA)
Address: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: renata.flima@outlook.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3662-2261>

Author 3

Rafael Antonio Freire Carvalho
Professor of Medicine Course - Pinheiro Campus - UFMA
Address: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: rafael.afc@ufma.br
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-1106-9517>

Author 4

Taciana Gabrielle Pinheiro de Moura Carvalho
Professor of the Department of Medicine II - Federal University of Maranhão (UFMA)
Address: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: taciaanagpmr@hotmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1781-8768>

Author 5

Larissa Rodrigues de Sousa
Master's student in Adult Health - PPGSAD - Federal University of Maranhão (UFMA)
Address: São Luís, Maranhão, Brasil

83 E-mail: larissa.rsousa@outlook.com
 84 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4539-3189>
 85
 86 Author 6
 87 Rafael França Lima
 88 Master's in Adult Health - PPGSAD - Federal University of Maranhão (UFMA)
 89 Address: São Luís, Maranhão, Brasil
 90 E-mail: rafaelfrancalima@gmail.com
 91 ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-5299-3743>
 92
 93 Author 7
 94 Rafael Cardoso Carvalho
 95 Professor of the Department of Pathology and Postgraduate Studies - Federal University of
 96 Maranhão (UFMA)
 97 Address: São Luís, Maranhão, Brasil
 98 E-mail: carvalho.rafael@ufma.br
 99 ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7073-8308>
 100
 101 Author 8
 102 Gustavo Medeiros Frota
 103 PhD student in Biotechnology - Renorbio – Federal University of Maranhão (UFMA)
 104 Address: São Luís, Maranhão, Brasil
 105 E-mail: gustavo.frota@discente.ufma.br
 106 ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7496-9699>
 107
 108 Author 9
 109 Wesley do Nascimento Silva
 110 Medical Student - Federal University of Maranhão (UFMA)
 111 Address: São Luís, Maranhão, Brasil.
 112 E-mail: wn.silva@discente.ufma.br
 113 ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0339-1057>
 114
 115 Author 10
 116 Isabella Barreto Froz
 117 Medical Student - Federal University of Maranhão (UFMA)
 118 Address: São Luís, Maranhão, Brasil.
 119 E-mail: isabella.froz@discente.ufma.br
 120 ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4371-1270>
 121
 122 Author 11
 123 Michelline Joana Tenório Albuquerque Madruga Mesquita
 124 PhD student in Biotechnology - Renorbio – Federal University of Maranhão (UFMA)
 125 Address: São Luís, Maranhão, Brasil
 126 E-mail: michelline.joana@ufma.br
 127 ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4133-7123>
 128
 129 Author 12
 130 Joicy Cortez de Sá Sousa
 131 Professor of the Department of Morphology and Postgraduate Studies - Federal University of
 132 Maranhão (UFMA)

Address: São Luís, Maranhão, Brasil
 E-mail: joicy.sa@ufma.br
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8678-0244>

Author 13

Marcelo Souza de Andrade
 Professor at the Department of Physiological Sciences and Postgraduate Studies - Federal University of Maranhão (UFMA)
 Address: São Luís, Maranhão, Brasil
 E-mail: Marcelo.andrade@ufma.br
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8518-6910>

Author 14

Maria do Socorro de Sousa Cartágenes
 Professor at the Department of Physiological Sciences and Postgraduate Studies - Federal University of Maranhão (UFMA)
 Address: São Luís, Maranhão, Brasil
 E-mail: cartagenes.maria@ufma.br
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2300-5248>

*Corresponding author: tereza.melo@ufma.br

Abstract: Interstitial cystitis/bladder pain syndrome (IC/BPS) is a chronic inflammatory condition of multifactorial etiology, characterized by pelvic pain and urinary dysfunction, whose therapeutic management remains a clinical challenge. This study evaluated the effects of cuminaldehyde, a natural phenolic compound, on inflammation and pain parameters in an experimental model of cyclophosphamide-induced cystitis in rats. Objectives: To evaluate the efficacy of cuminaldehyde in the treatment of pain and inflammation in an experimental model of interstitial cystitis. Methodology: Thirty-five rats were divided into seven groups: 1) NON-INDUCED group (n=5) – healthy, untreated animals; 2) INDUCED group (n=5) – cystitis-induced animals treated with 0.9% saline; 3) CUMINALDEHYDE 2.5 mg D7 group (n=5) – cystitis-induced animals treated with cuminaldehyde 2.5 mg/kg/day for 7 days; 4) CUMINALDEHYDE 2.5 mg D14 group (n=5) – treated with cuminaldehyde 2.5 mg/kg/day for 14 days; 5) CUMINALDEHYDE 5 mg D7 group (n=5) – treated with cuminaldehyde 5 mg/kg/day for 7 days; 6) CUMINALDEHYDE 5 mg D14 group (n=5) – treated with cuminaldehyde 5 mg/kg/day for 14 days; 7) MELOXICAM group (n=5) – treated with meloxicam 2.5 mg/kg/day. Mechanical allodynia was assessed using the Von Frey test, and facial expression of pain was evaluated using the Grimace Scale. Results: The in-silico analysis revealed high binding affinity of cuminaldehyde to target proteins associated with pain and inflammation modulation (3RZE, 3ODU, 5IRX, and 6LFL), primarily mediated by hydrophobic interactions. In the in vivo model, treatment with cuminaldehyde (2.5 mg/kg and 5 mg/kg) significantly reduced serum levels of the pro-inflammatory cytokine IL-1 β and increased IL-10 levels. It also promoted a reduction in the absolute number of mast cells and improved bladder histopathological findings. In behavioral analysis, there was a trend toward reduced mechanical allodynia and lower facial pain scores, particularly at the 5 mg/kg dose, although without statistically significant differences in perceptive pain parameters compared to the positive control group. Conclusion: The findings demonstrate that cuminaldehyde exerts anti-inflammatory, immunomodulatory, and uroprotective effects in an experimental model of interstitial cystitis, highlighting its potential as a therapeutic alternative for bladder inflammatory disorders. Further studies are needed to better elucidate its mechanisms of action and validate its clinical applicability.

Keywords: Cuminaldehyde; interstitial cystitis; bladder pain syndrome; anti-inflammatory; immunomodulation.

Abbreviations: Interstitial cystitis/bladder pain syndrome (IC/BPS).

INTRODUCTION

Interstitial cystitis (IC), also known as bladder pain syndrome (BPS), is a chronic condition with an etiology that remains not fully elucidated, likely of multifactorial origin and progressive in nature. It is clinically characterized by the classic triad of bladder pain, urinary urgency, and increased urinary frequency, in the absence of infection or any other identifiable cause for more than six weeks (1,2). Typical cystoscopic findings include Hunner's ulcers and structural changes in the bladder wall, such as inflammation and thickening, which compromise its elasticity and function (3).

Epidemiological studies indicate a prevalence of 2.7% to 6.5% among adult women in the United States and 2.9% to 4.2% among men, suggesting underdiagnosis, particularly in the male population. The prevalence is even higher in individuals with chronic pelvic pain, reaching up to 32%, highlighting the need to consider IC in the differential diagnosis of pelvic pain syndromes in both women and men (4).

In addition to urological symptoms, IC/BPS is frequently associated with systemic manifestations, reflecting its complex and multifactorial nature. Diagnosis is often delayed, occurring years after symptom onset, which worsens disease progression and negatively impacts patients' quality of life. Literature data show a significant association between pelvic inflammatory disease and IC/BPS, increasing the risk by up to 3.6 times due to persistent inflammation, which promotes sensitization of pelvic organs and exacerbates pain (5). Furthermore, the coexistence of other chronic pain conditions, such as migraine, fibromyalgia, and irritable bowel syndrome, reinforces the hypothesis that its pathophysiology involves not only local mechanisms but also systemic and central processes, such as central sensitization (6,7,8).

The diagnostic approach to IC/BPS includes a detailed medical history, physical examination, and laboratory investigations aimed at excluding other conditions (9). Complementary tests, such as urodynamic studies and cystoscopy, are indicated in specific cases, particularly when Hunner's ulcers or significant bladder dysfunction is suspected (10).

The etiology of IC/BPS remains undefined, with a proposed complex interaction of factors, including urothelial barrier dysfunction, neurogenic inflammation, mast cell activation, immune dysfunction, and neuroinflammation (11). Visceral hypersensitivity, a hallmark of the disease, may result from the activation of primary afferent fibers and the sensitization of

interneurons in the dorsal horn of the spinal cord, a mechanism known as central sensitization. This process is mediated by the release of excitatory neurotransmitters, such as glutamate and aspartate, which activate N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors, leading to neuronal hyperexcitability and the perception of non-noxious stimuli as painful. Additionally, pro-inflammatory interleukins, including IL-1 β , IL-6, and TNF- α , play a critical role by enhancing the excitability of nociceptive pathways and sustaining inflammation, while reduced levels of anti-inflammatory cytokines like IL-10 further contribute to the maintenance of pain. Proteins such as TRPV1 and CXCR4 are also implicated, as they modulate nociceptive signaling and inflammatory cell recruitment, reinforcing the persistent pain and inflammatory state characteristic of interstitial cystitis. (12).

Given the pathophysiological complexity, the lack of reliable biomarkers, and the limitations of current therapeutic options, particularly in the management of chronic pain, IC/BPS represents a significant challenge for patients, healthcare professionals, and researchers. In this context, developing innovative therapeutic approaches based on a better understanding of the underlying molecular mechanisms is essential. Cuminaldehyde, a natural phenolic compound found in cumin and cinnamon, has gained attention in the literature for its anti-inflammatory, antioxidant, and antinociceptive properties. Studies suggest that cuminaldehyde exerts modulatory effects on inflammatory and nociceptive pathways, potentially representing a promising alternative for controlling pain associated with IC/BPS.

In this context, the present study aims to evaluate the effects of cuminaldehyde on pain and inflammation parameters in a cyclophosphamide-induced experimental model of cystitis, contributing to the search for new therapeutic strategies for the management of IC/BPS.

242

243 **OBJECTIVES**

244 **General Objective**

245 To evaluate the uroprotective, analgesic, and anti-inflammatory effects of
246 cuminaldehyde in a cyclophosphamide-induced interstitial cystitis model in rats, aiming to
247 understand its therapeutic potential in modulating pain and the inflammatory process associated
248 with bladder dysfunction.

249 **Specific Objectives**

250 To assess the effects of cuminaldehyde on perceptive pain in animals with
251 cyclophosphamide-induced interstitial cystitis through specific behavioral tests.

To analyze the impact of cuminaldehyde on the bladder inflammatory process through histopathological evaluation of the bladder.

To evaluate the effects of cuminaldehyde on the systemic immune response by measuring serum levels of pro-inflammatory cytokine (IL-1 β) and anti-inflammatory cytokine (IL-10).

MATERIALS AND METHODS

In Silico Study

The molecular structures of cuminaldehyde (C₁₀H₁₂O) were optimized using Density Functional Theory (DFT) with the B3LYP functional and the 6-31++G(d,p) basis set, employing the Gaussian software (13). Target proteins (PDB IDs: 3ODU, 3RZE, 5IRX, 6LFL) were obtained from the Protein Data Bank, prepared using Chimera, and subjected to molecular docking using AutoDock Vina. Validation was performed through re-docking, considering an RMSD $\leq$ 2.0 Å. The interactions were visualized using Discovery Studio Visualizer and Chimera (14, 15, 16).

Animals and Experimental Design

Male Wistar rats, aged 60 days and weighing between 230 and 300 g, were used. They were kept under controlled conditions (23 $\pm$ 2 °C, 12-hour light/dark cycle). The experimental protocol was approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA/UFMA, protocol no. 23115.016268/2023-76). Cystitis was induced with cyclophosphamide (Genuxal®) - (150 mg/kg, intraperitoneally) (17). The cuminaldehyde used in the present study was purchased commercially (SigmaAldrich; San Luis, MO, USA), with a purity of 98%, and stored at room temperature until use. The animals were randomly divided into seven groups (n = 5 per group): Non-induced (healthy control), induced (CST, untreated), Cystitis + Meloxicam (2 mg/kg), and Cystitis + Cuminaldehyde (2.5 or 5 mg/kg), treated for 7 or 14 days via oral gavage.

Behavioral Assessment

Assessment of mechanical allodynia – von Frey test

The assessment of mechanical allodynia was performed using a digital analgesimeter (Insigth model, São Paulo, Brazil), which consists of a pressure transducer connected to a digital force counter expressed in grams (g). The accuracy of the device is 0.1g. The device was

285 calibrated to record a maximum force of 150g, maintaining an accuracy of 0.1g up to a force of
 286 80g. The evoked pain was assessed by applying the transducer to the animal's lower abdomen
 287 between the urethra and the tail and also to the right hind paw, as a control site.

288 Nociception was assessed through mechanical allodynia testing using adigital von Frey
 289 apparatus on days D0, D7, and D14. Measurements were performed on the abdominal region
 290 and the right hind paw by blinded evaluators (18, 19).

291

292 **Pain assessment - Grimace Scale**

293 The animals were assessed in their cages by a single observer and the Grimace scale
 294 was used to assess pain by assessing facial expressions (20). Four aspects of facial expressions
 295 were assessed: orbital narrowing, protuberance of the nose and cheek, ear position and change
 296 in whiskers. Scores from 0 to 2 were assigned depending on the assessment.

297

298 **Sample Collection**

299 At the end of the treatment period, animals were anesthetized with inhaled isoflurane
 300 (1.5 MAC) and subjected to laparotomy for collection of the bladder, liver, and blood samples.
 301 Bladders were divided for histological and molecular analyses.

302

303 **Cytokine Quantification**

304 The cytokines IL-1 β (pro-inflammatory) and IL-10 (anti-inflammatory) were quantified
 305 in serum samples using Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with commercial kits
 306 (R&D Systems®), following the manufacturer's instructions (21, 22).

307

308 **Histological Analysis**

309 Bladders were paraffin-embedded, sectioned at 4 μ m, and stained with Hematoxylin-
 310 Eosin (HE) and Toluidine Blue. Inflammation, circulatory and cellular changes were assessed,
 311 along with mast cell quantification in the urothelium, which were assessed with a Coleman
 312 optical microscope (model N-180M), using objectives: 4x (500 m); 10x (200 m). The image
 313 capture program was ScopeImage 9.0.

314

315 **Statistical Analysis**

316 Data were analyzed using One-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test, with
 317 significance set at $p < 0.05$. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism®.

318

319 **RESULTS**

320 **In Silico Study**

321 The predominance of hydrophobic interactions suggests that cuminaldehyde efficiently
 322 accommodates itself within the active site of 3RZE, primarily using apolar interactions for
 323 anchoring. This type of interaction is often relevant in hydrophobic environments, such as
 324 enzyme pockets, and can contribute to complex stability even in the absence of hydrogen
 325 bonds, as illustrated in Figures 1 and 2. This interaction pattern indicates a potential inhibitory
 326 effect of cuminaldehyde, with possible pharmacological relevance in applications related to the
 327 modulation of proteins associated with inflammatory processes and pain perception, aligning
 328 with its anti-inflammatory profile already described in the literature.

329 In the 3ODU/cuminaldehyde complex, a binding energy of -6.8 kcal/mol was observed,
 330 indicating a stable molecular interaction between the ligand and the protein. Unlike the 3RZE
 331 complex, cuminaldehyde established a hydrogen bond with the Arg188 residue, which
 332 contributes to increased specificity and stability of the interaction within the active site.

333 Additionally, eight hydrophobic interactions were identified with the residues Tyr116,
 334 Val112, His113, Trp102, Asp97, Cys186, Phe93, and Trp94, demonstrating that
 335 cuminaldehyde efficiently accommodates itself within the protein's active pocket, utilizing
 336 both apolar interactions and a hydrogen bond for anchoring. This interaction pattern suggests
 337 that cuminaldehyde has versatility in interacting with different protein active sites, reinforcing
 338 its potential as a modulator of biological targets involved in inflammatory processes and pain.

339 The presence of the hydrogen bond, combined with the hydrophobic interactions, may
 340 indicate greater conformational stability of the complex, which could be relevant for future
 341 studies on the efficacy of cuminaldehyde as a potential inhibitor in experimental models of
 342 inflammation and pain.

343

344 **Behavioral Pain**

345 **Assessment of mechanical Allodynia (Von Frey Test)**

346 Nociceptive behavior is shown in Figure 3. The cystitis-induced group exhibited a
 347 significantly reduced nociceptive threshold, characterizing mechanical allodynia. Treatment
 348 with cuminaldehyde, especially at the dose of 5 mg/kg, resulted in a significant increase in the
 349 pain threshold on day 7 ($p = 0.0006$) and day 14 ($p < 0.0001$), comparable to the group treated
 350 with meloxicam. The 2.5 mg/kg dose also improved the nociceptive threshold, although to a
 351 lesser extent.

Grimace Scale (Facial Expression of Pain)

The induced group presented the highest pain scores, especially on day 7 (D7). Although a trend toward reduced facial expression of pain was observed in the groups treated with cuminaldehyde, there was no statistically significant difference compared to the control group.

Cytokine measurement

As illustrated in Figure 4, IL-1 β and IL-10 levels were modulated across the experimental groups. The untreated cystitis group exhibited a significant increase in IL-1 β and a decrease in IL-10 levels, indicating an exacerbated inflammatory response. Treatment with cuminaldehyde, particularly at the 5 mg/kg dose, led to a significant reduction in IL-1 β levels and an increase in IL-10, suggesting effective modulation of the inflammatory response and a relevant anti-inflammatory effect.

Histological Analysis

Macroscopic Evaluation

Animals in the cystitis group presented contracted bladders with thickened walls and hemorrhagic content, confirming the successful induction of the hemorrhagic cystitis model.

Histopathological Evaluation

As shown in Figure 5, the cystitis group exhibited severe alterations, such as intense congestion, hemorrhage, mononuclear inflammatory infiltrate, and disorganization of the bladder wall layers. Some animals also showed perivascular bladder architecture, with no significant inflammatory infiltrate. leukocyte infiltration when compared to healthy controls.

It was observed that treatment with meloxicam provided a partial improvement of the inflammatory condition, characterized by a reduction in hemorrhagic foci, although the presence of a moderate mononuclear inflammatory infiltrate remained evident.

In animals treated with cuminaldehyde at a dose of 2.5 mg/kg, a reduction in both hemorrhage and inflammatory infiltrate was noted, indicating a relevant anti-inflammatory effect. However, persistent vascular congestion was still observed, although to a lesser extent compared to the untreated group.

According to Figure 6, it is evident that treatment with cuminaldehyde at a dose of 5 mg/kg resulted in the near-complete preservation of bladder tissue architecture, with well-defined mucosal, submucosal, muscular, and serosal layers. Only mild to moderate congestion and a slight inflammatory infiltrate were observed, indicating tissue restoration close to the normal pattern.

Evaluation of Absolute Mast Cell Count

In the animals treated with cuminaldehyde, a reduction in the absolute number of mast cells was observed, with a significant difference in the group that received cuminaldehyde at 5 mg/kg when compared to the untreated cystitis group, which remained similar to the healthy control group.

As shown in Figure 8, there was a marked increase in the number of mast cells in the lamina propria of the bladder wall in the cystitis-induced group compared to the other experimental groups.

DISCUSSION

Cuminaldehyde has been extensively investigated for its molecular affinity with different proteins and cytokines, demonstrating relevant therapeutic potential in various biological contexts. The proteins analyzed, identified by the PDB codes 3ODU, 3RZE, 5IRX, and 6LFL, are involved in biological pathways associated with inflammation, immune regulation, and pain perception.

The molecular docking studies performed demonstrated that cuminaldehyde exhibits significant affinity with these proteins. Among them, the highlights are: 3RZE, a dengue virus protease; 3ODU, a kinase involved in cellular signaling; 6LFL, a glycoprotein related to virus-cell interaction; and 5IRX, a protein involved in modulating inflammatory processes. The obtained binding energy values indicate favorable interactions, with the cuminaldehyde/3RZE complex showing the highest affinity ($\Delta G_{\text{bind}} = -6.9$ kcal/mol).

The interaction with the 3RZE protein, despite not involving hydrogen bonds, was stabilized by twelve hydrophobic interactions, suggesting that these interactions were crucial for the stability of the complex. This pattern is relevant as it shows that cuminaldehyde has high affinity even in the absence of polar interactions, which can be advantageous in hydrophobic biological environments such as cell membranes and apolar enzymatic sites. These findings also indicate that the development of cuminaldehyde derivatives with greater

hydrogen bonding capacity may be a promising strategy to optimize its pharmacological potential.

In the 3ODU/Cuminaldehyde complex, the presence of a hydrogen bond (with Arg188) and eight hydrophobic interactions highlights a stable and effective interaction, reinforcing the versatility of cuminaldehyde in interacting with different protein active sites. The proteins 6LFL and 5IRX showed moderate affinities (ΔG_{bind} of -6.5 and -6.1 kcal/mol, respectively), involving both hydrophobic and hydrogen bonding interactions, further supporting cuminaldehyde's profile as a promising multitarget ligand, especially for targets related to inflammatory processes.

Although no studies have been found in the literature directly assessing cuminaldehyde's interaction with these proteins in the specific context of pain and inflammation, its previously described pharmacological profile—including antioxidant and anti-inflammatory properties—suggests that these molecular interactions may be relevant for developing new therapeutic strategies. These findings become particularly significant in the context of bladder pain syndrome (IC/BPS), where inflammation and immune dysfunction play a central role in pathophysiology.

Pro-inflammatory cytokines, such as IL-1 β , IL-6, TNF- α , and the chemokine IL-8, play a critical role in sustaining inflammation in IC/BPS. Recent studies have shown a significant elevation of these mediators in the serum of patients with IC/BPS compared to healthy controls, with no correlation to participants' age (23, 24, 25). Furthermore, positive correlations were identified between IL-1 β and IL-8, IL-6 and CRP, IL-6 and IL-8, and IL-6 and TNF- α , suggesting an interdependent inflammatory network that contributes to the maintenance of the disease's clinical picture. This implies not only mast cell activation but also the involvement of other inflammatory mediators playing key roles in the pathogenesis of IC/BPS (26).

The in-silico analysis of cuminaldehyde interactions with cytokines IL-1 β (pro-inflammatory) and IL-10 (anti-inflammatory) suggests a potential immunomodulatory effect, with the ability to attenuate inflammatory processes by balancing the immune response. These results strengthen the hypothesis that cuminaldehyde may be a promising candidate for the development of anti-inflammatory therapies applicable to IC/BPS and other chronic inflammatory conditions.

In this study, the administration of cyclophosphamide (CYP) at a dose of 150 mg/kg intraperitoneally did not produce immediate behavioral changes in the animals during the observation period. However, it is well established that CYP induces significant bladder inflammation, characterized by manifestations of visceral pain such as eye closure, reduced

454 respiratory rate, and immobility, which validates its use as an experimental model for
455 evaluating pain associated with cystitis (27).

456 Mechanical sensitivity assessment, conducted using the Von Frey test, demonstrated
457 the presence of visceral hypersensitivity in animals with induced cystitis, characterized by a
458 reduced mechanical threshold. Although the data did not show statistically significant
459 differences between groups, there was a trend toward reduced allodynia in the group treated
460 with 5 mg/kg cuminaldehyde. However, this response was neither dose-dependent nor
461 consistent across all tests.

462 Similarly, pain analysis using the Grimace Scale—a validated tool for assessing facial
463 expressions of pain in animal models—showed a trend toward reduced pain expression in the
464 group treated with the highest dose of cuminaldehyde. The study by Onuma et al. (2022), which
465 reviewed the use of the Grimace Scale in pain models, supports this observation. They
466 emphasized that the Grimace Scale is a robust method for detecting pain but that analgesic
467 efficacy may vary depending on the type of pain and the anti-inflammatory agent used (19). In
468 our study, although pain was partially controlled, the results indicate that none of the groups
469 succeeded in reducing pain to statistically significant levels compared to the induced group. It
470 is possible that the observed anti-inflammatory activity, such as the reduction in mast cell
471 numbers, was not sufficient to promote robust analgesia. This hypothesis is supported by
472 studies showing that isolated anti-inflammatory compounds like cuminaldehyde may not be
473 fully effective in pain control without concurrent action on specific nociceptive pathways.

474 The literature indicates that cuminaldehyde has inhibitory activity on the enzyme 15-
475 lipoxygenase (15-LOX) and potential as a dual COX-LOX inhibitor, positioning it as a
476 potential candidate within the next generation of nonsteroidal anti-inflammatory drugs
477 (NSAIDs). This activity may partially explain the reduction in inflammation observed,
478 although it did not fully translate into effective analgesia in the present model (28).

479 Histological analysis revealed mild to moderate hepatic congestion in all experimental
480 groups, including those treated with cuminaldehyde and meloxicam, as well as the cystitis
481 group. These findings suggest that both model induction and treatments may promote
482 alterations in hepatic circulation without causing irreversible lesions such as necrosis or
483 extensive hemorrhage. The occurrence of hydropic degeneration in two animals may be related
484 to an exacerbated inflammatory response or individual susceptibility.

485 Regarding the bladder samples, the Sham group maintained preserved tissue
486 architecture, while the Cystitis and Meloxicam groups exhibited significant lesions, including
487 intense congestion, hemorrhage, and inflammatory infiltrate, mainly in the mucosal and

submucosal layers. These findings are consistent with the toxic effects of cyclophosphamide on the bladder, whose biotransformation produces metabolites such as acrolein, which is highly damaging to the urothelium (29). In previous studies, such as the one by Morais et al., it was shown that treatment with anti-inflammatory agents can partially attenuate these effects but does not completely eliminate the lesions, especially at lower doses, as observed in their study with the meloxicam-treated group (30).

Additionally, mast cell infiltration in the bladder's lamina propria was observed in animals from the induced group—a finding well documented in the literature, both in experimental models and in biopsies from patients with IC/BPS. The role of mast cells in the syndrome's pathophysiology is well established, as these cells modulate local and systemic inflammation, actively participating in immune cell recruitment and perpetuating the inflammatory response. A study involving biopsies from 56 patients with IC/BPS showed an increase in mast cell numbers in the detrusor muscle as a characteristic of bladder pain syndrome (31). It is also well established that mast cells exert positive or negative immunomodulatory effects on immune system cells, influencing both cell recruitment and the phenotypic development of immune cell functions (32).

CONCLUSIONS

The results obtained in this study demonstrate that cuminaldehyde possesses relevant anti-inflammatory and uroprotective properties in a cyclophosphamide-induced experimental model of interstitial cystitis in rats. Behavioral analyses revealed that, although it did not promote significant relief of perceptive pain in all evaluated parameters, treatment with cuminaldehyde—especially at a dose of 5 mg/kg—showed a tendency toward reduced mechanical allodynia and lower facial pain scores, indicating a possible modulatory effect on visceral nociception.

At the molecular level, *in silico* studies confirmed cuminaldehyde's high affinity with protein targets involved in pain and inflammation modulation, highlighting stable interactions with the 3RZE and 3ODU receptors, predominantly mediated by hydrophobic interactions. Additionally, the compound demonstrated the ability to modulate the systemic immune response, evidenced by reduced serum levels of IL-1 β and increased IL-10, reinforcing its anti-inflammatory effect.

Histopathological evaluation of the bladder confirmed that cuminaldehyde promoted preservation of tissue architecture, reduction of inflammatory infiltrate, and a significant decrease in mast cell numbers, particularly at the 5 mg/kg dose, results that corroborate its anti-inflammatory and uroprotective actions.

Based on these findings, it is concluded that cuminaldehyde presents relevant therapeutic potential as an anti-inflammatory and immunomodulatory agent in experimental interstitial cystitis. However, its analgesic effects remain limited and require further investigation. Future studies are needed to better elucidate the molecular mechanisms involved, optimize dosing, evaluate efficacy in chronic models, and explore structural modifications of the compound that may enhance its analgesic, anti-inflammatory, and pharmacological safety profiles.

Funding: This research was funded by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), through the Academic Excellence Program (PROEX), under grant number 88881.894490/2023-01. The study was carried out within the scope of the Postgraduate Program in Biotechnology – Northeast Network of Biotechnology (RENORBIO).

Acknowledgments:

The authors gratefully acknowledge the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, Brazil) for the financial support through graduate scholarships, and the Northeast Network of Biotechnology (RENORBIO) for providing academic and scientific support for the development of this research. We also thank the Laboratory of Pain and Inflammation of the Universidade Federal do Maranhão (UFMA) for providing technical support and research infrastructure, as well as the Postgraduate Program in Health Sciences of UFMA and the Universidade CEUMA for their institutional support. Our appreciation extends to the staff of the Central Animal Facility (Bioterium) of UFMA, whose assistance with animal care was essential, and to the Laboratory of Morphology and Histology for their support in conducting the histological analyses. We also thank the Laboratory of Immunofluorescence and Electron Microscopy (LIME-HUUFMA) and the Molecular Biology Laboratory of UFMA for providing essential support for molecular and imaging analyses. The authors are also grateful to all colleagues and laboratory members whose contributions were fundamental to the execution of this work

Author contributions: Conceptualization, T.C.M.M.P., J.B.S.G., M.S.A., and M.S.S.C.; methodology, T.C.M.M.P., R.F.L., R.A.F.C., T.G.P.M.C., R.C.C., G.E.B.S., and J.C.S.S.; software, R.F.L. and G.M.F.; validation, T.C.M.M.P. and G.E.B.S.; formal analysis, L.R.S. and W.N.S.; investigation, A.C.S.N.C. and M.J.T.A.M.M.; resources, M.S.A. and M.S.S.C.; data curation, R.A.F.C., T.C.M.M.P., I.B.F., and W.N.S.; writing—original draft preparation, T.C.M.M.P. and M.S.S.C.; writing—review and editing, T.C.M.M.P., M.S.A., and M.S.S.C.; visualization, I.B.F. and R.F.L.; supervision, J.B.S.G., M.S.A., and M.S.S.C.; project administration, T.C.M.M.P. and M.S.S.C.; funding acquisition, T.C.M.M.P. and M.S.S.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Conflict of interest: If necessary, authors should describe any potential conflicts of interest.

REFERENCES

1. Hanno PM, Erickson D, Moldwin R, Faraday MM. Diagnosis and Treatment of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome: AUA Guideline Amendment. *Journal of Urology*. 2015;193(5):1545–53.
2. Clemens JQ, Erickson DR, Varela NP, Lai HH. Diagnosis and Treatment of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome. *J Urol*. 2022; 208(1):34–42.
3. Akiyama Y. Biomarkers in Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome with and without Hunner Lesion: A Review and Future Perspectives. *Diagnostics*. 2021;11.
4. Davis NF, Brady CM, Creagh T. Interstitial cystitis/painful bladder syndrome: epidemiology, pathophysiology and evidence-based treatment options. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014; 175:30–7.
5. Chung SD, Chang CH, Hung PH, Chung CJ, Muo CH, Huang CY. Correlation Between Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis and Pelvic Inflammatory Disease. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(46):e1878.
6. Clauw DJ. Fibromyalgia and related conditions. *Mayo Clin Proc*. 2015;90(5):680–92.
7. Messelink B, Flink I, Dos Santos A, Adamse C. Chronic pelvic pain; more than just the bladder. *Curr Opin Urol*. 2024;34(2):69–76.
8. Fall M, Nordling J, Cervigni M, Oliveira PD, Fariello J, Hanno P, et al. Hunner lesion disease differs in diagnosis, treatment and outcome from bladder pain syndrome: an ESSIC working group report. *Scandinavian Journal of Urology*. 2020; 54:91–8.
9. Plekhanova OA, Kochetov AG, Baikov NA. Endoscopic diagnostics of bladder pain syndrome/interstitial cystitis. *Bulletin of the Medical Institute of Continuing Education*. 2023.
10. Kuo Y, Kuo H. The role of urodynamic study in evaluation of interstitial cystitis/painful bladder syndrome. *Tzu Chi Medical Journal*. 2013; 25:131–4.
11. Ji R, Nackley A, Huh Y, Terrando N, Maixner W. Neuroinflammation and Central Sensitization in Chronic and Widespread Pain. *Anesthesiology*. 2018;129 2:343–66.
12. Walters ET. Nociceptors and Chronic Pain. Em: *Oxford Research Encyclopedia of Neuroscience* [Internet]. 2021.
13. Gasteiger J, Marsili M. Iterative partial equalization of orbital electronegativity—a rapid access to atomic charges. *Tetrahedron* [Internet]. 1980.
14. Pettersen EF, Gddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera-a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*. 2004;25(13):1605–12.
15. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*. 2010;31(2):455–61.
16. Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE, Belew RK, et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. 2025.
17. Augé C, Gamé X, Vergnolle N, Lluet P, Chabot S. Characterization and Validation of a Chronic Model of Cyclophosphamide-Induced Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome in Rats. *Front Pharmacol*. 2020; 11:1305.
18. Tena B, Escobar B, Arguis MJ, Cantero C, Rios J, Gomar C. Reproducibility of Electronic Von Frey and Von Frey monofilaments testing. *Clin J Pain*. 2012;28(4):318–23.
19. Onuma K, Watanabe M, Sasaki N. The grimace scale: a useful tool for assessing pain in laboratory animals. *Experimental Animals*. 2024; 73:234–45.
20. Sotocinal SG, Sorge RE, Zaloum A, Tuttle AH, Martin LJ, Wieskopf JS, et al. The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Mol Pain*. 2011; 7:55.
21. Lamale LM, Lutgendorf S, Zimmerman M, Kreder K. Interleukin-6, histamine, and methylhistamine as diagnostic markers for interstitial cystitis. *Urology*. 2006;68 4:702–6.
22. Bahia MS, Kaur M, Silakari P, Silakari O. Interleukin-1 receptor associated kinase inhibitors: potential therapeutic agents for inflammatory- and immune-related disorders. *Cell Signal*. 2015;27(6):1039–55.
23. Miller DK, Ayala JM, Egger LA, Raju SM, Yamin TT, Ding GJ, et al. Purification and characterization of active human interleukin-1 beta-converting enzyme from THP.1 monocytic cells. *J Biol Chem*. 1993;268(24):18062–9.
24. Cassatella MA, Meda L, Bonora S, Ceska M, Constantin G. Interleukin 10 (IL-10) inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear leukocytes. Evidence for an autocrine role of tumor necrosis factor and IL-1 beta in mediating the production of IL-8 triggered by lipopolysaccharide. *J Exp Med*. 1993;178(6):2207–11.
25. Wilson KP, Black JA, Thomson JA, Kim EE, Griffith JP, Navia MA, et al. Structure and mechanism of interleukin-1 beta converting enzyme. *Nature*. 1994;370(6487):270–5.

26. Ding Y, Xu J, Bromberg JS. Regulatory T cell migration during an immune response. *Trends Immunol.* 2012;33(4):174–80.
27. Boucher M, Meen M, Codron JP, Coudore F, Kemeny JL, Eschalier A. Cyclophosphamide-induced cystitis in freely- moving conscious rats: behavioral approach to a new model of visceral pain. *J Urol.* 2000;164(1):203–8.
28. Tomy MJ, Dileep KV, Prasanth S, Preethidan DS, Sabu A, Sadasivan C, et al. Cuminaldehyde as a Lipoygenase Inhibitor: In Vitro and In Silico Validation. *Appl Biochem Biotechnol.* 2014;174(1):388–97.
29. Sucic M, Luetic K, Jandric I, Drmic D, Sever AZ, Vuletic LB, et al. Therapy of the rat hemorrhagic cystitis induced by cyclophosphamide. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157, L-arginine, L-NAME. *Eur J Pharmacol.* 2019; 861:172593.
30. Morais SV de, Mendonça PG, Vasconcelos CC, Lopes PLA, Garcia JBS, Calzerra NTM, et al. Cuminaldehyde Effects in a MIA-Induced Experimental Model Osteoarthritis in Rat Knees. *Metabolites.* 2023;13(3):397.
31. Gamper M, Regauer S, Welter J, Eberhard J, Viereck V. Are mast cells still good biomarkers for bladder pain syndrome/interstitial cystitis? *The Journal of Urology.* 2015;193 6:1994–2000.
32. Mukai K, Tsai M, Saito H, Galli S. Mast cells as sources of cytokines, chemokines, and growth factors. *Immunological Reviews.* 2018; 282:121–50.

TABLES

Complex (Ligand-Protein)	ΔG_{bind} (kcal.mol ⁻¹)	Amino acids that interacted through hydrogen bonding	Amino acids involved in hydrophobic interactions
3RZE/ Cuminaldehyde	- 6.9	-	Tyr431(A), Lys191(A), Thr194(A), Phe435(A), Tyr108(A), Ala195(A), Trp158(A), Asn198(A), Phe432(A), Trp428(A), Asp107(A), Ser111(A).
3ODU/ Cuminaldehyde	- 6.8	Arg188(A)	Tyr116(A), Val112(A), His113(A), Trp102(A), Asp97(A), Cys186(A), Phe93(A), Trp94(A).
6LFL/ Cuminaldehyde	- 6.5	Gln319(A) e Lys320(A)	Val69(A), Leu87(A), Phe321(A), Gly318(A), Asp84(A), Val252(A), Ile73(A), Tyr314(A)
5IRX/ Cuminaldehyde	- 6.1	Arg557(A)	Ala566(A), Tyr511(A), Ile573(A), Leu669(B), Thy550(A), Asn551(A), Leu553(A), Phe587(B), Leu515(A), Ser512(A), Ile569(A).

ΔG_{bind} : Binding free energy (kcal/mol); hydrogen bonding and relevant hydrophobic interactions in the active site of the proteins were considered. Source: Data from the in-silico study conducted by the author (2024).

Figures

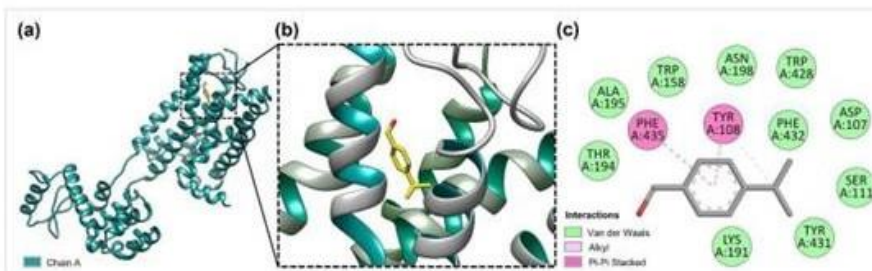


Figure 1. Cuminaldehyde-3RZE Binding Interactions. (a) 3D conformation of the ligand cuminaldehyde with the enzyme 3RZE. (b) 3D hydrogen bonding interaction. (c) 2D schematic representation showing hydrogen bonds and hydrophobic interactions in the protein-ligand complex (3RZE/cuminaldehyde). Data from the in silico study conducted by the author (2024).

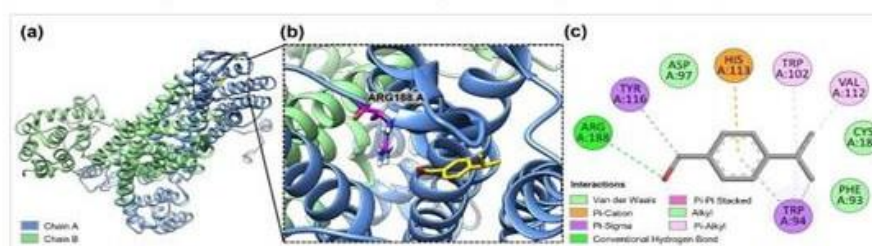


Figure 2. Cuminaldehyde-3ODU Binding Interactions. (a) 3D conformation of the ligand cuminaldehyde with the enzyme 3ODU. (b) 3D hydrogen bonding interaction. (c) 2D schematic representation showing hydrogen bonds and hydrophobic interactions in the protein-ligand complex (3ODU/cuminaldehyde). Source: Prepared by the author (2024).

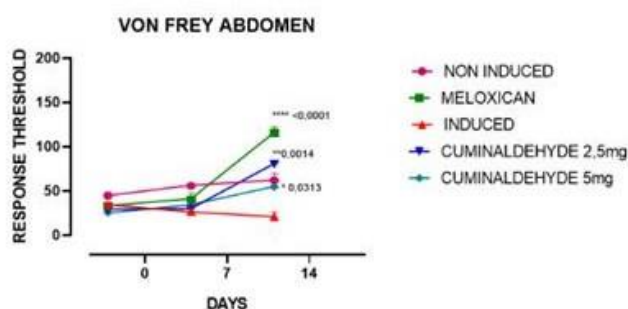


Figure 3. Effect of cuminaldehyde on the abdominal nociceptive threshold in an induced interstitial cystitis model. The Cystitis group showed a significant reduction in the pain threshold ($p < 0.0001$), while the groups treated with cuminaldehyde, especially at the dose of 5 mg/kg, showed significant recovery, comparable to the meloxicam group. Data are expressed as mean $\pm$ SD. $p < 0.05$ was considered statistically significant. Source: Prepared by the author (2024).

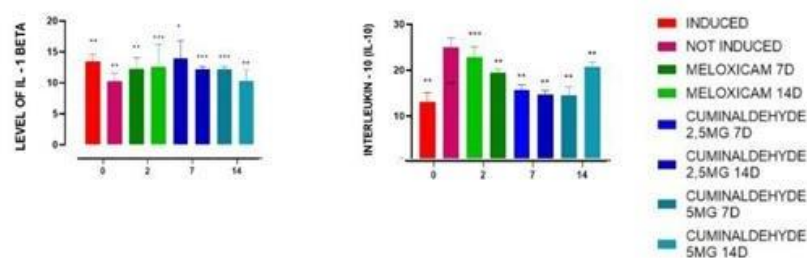


Figure 4. Mean levels of IL-1 β (A) and IL-10 (B) in the experimental groups. The Cystitis group showed a significant increase in IL-1 β and a reduction in IL-10, indicating an exacerbated inflammatory response. Treatment with cuminaldehyde, especially at the dose of 5 mg/kg, significantly reduced IL-1 β and increased IL-10 ($p < 0.05$), demonstrating an anti-inflammatory effect. Data are expressed as mean $\pm$ SD.

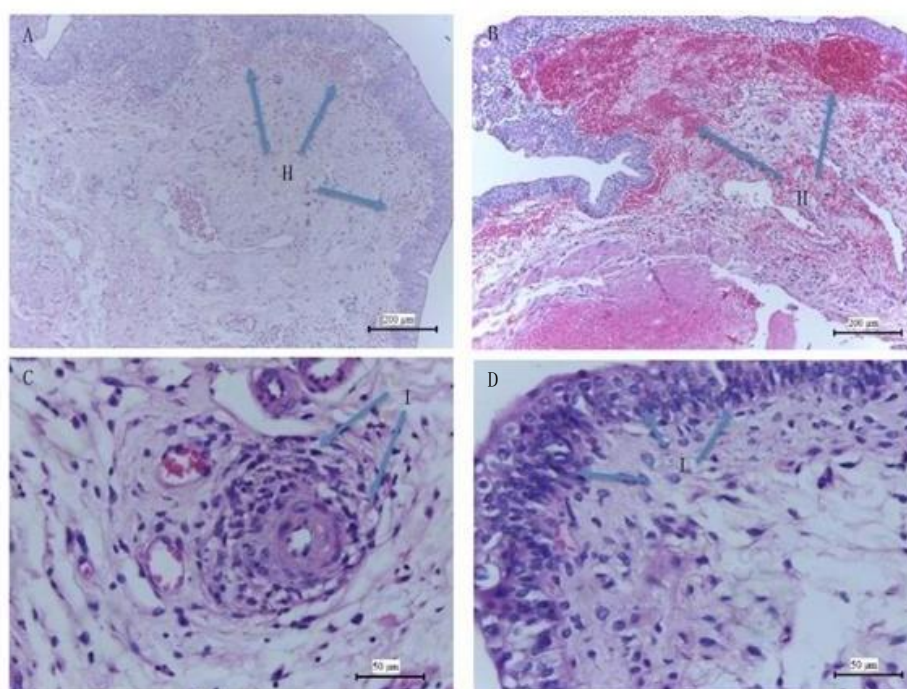


Figure 5. Histopathological Findings in the Bladder. Hemorrhage (H) in the mucosal and submucosal layers at 10x magnification in moderate quantity (A) and in large quantity (B); perivascular mononuclear leukocyte infiltrate (I) at 40x magnification in the submucosa (C) and mucosa (D). Slide stained with hematoxylin-eosin (HE) technique. Source: Author's own data (2024).

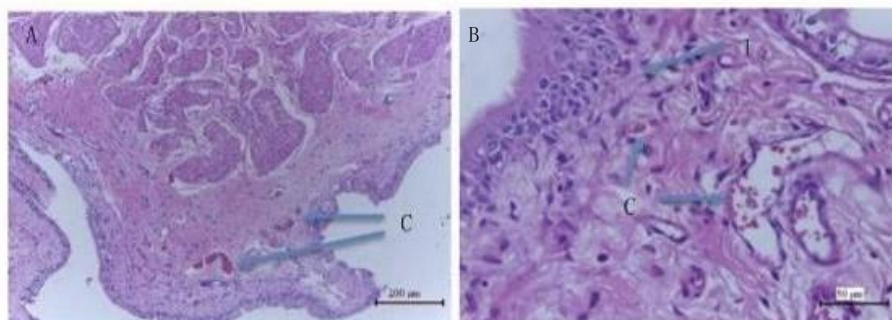


Figure 6. Photomicrograph of the bladder after treatment with cuminaldehyde 5 mg/kg. A reduction in the mononuclear inflammatory cell infiltrate (I) is observed, with an almost normal appearance of the cellular layers, presenting only a more pronounced congestion (C). Magnification of 10x (A) and 40x (B). Slide stained with hematoxylin-eosin (HE) technique. Source: Author's own data (2024).

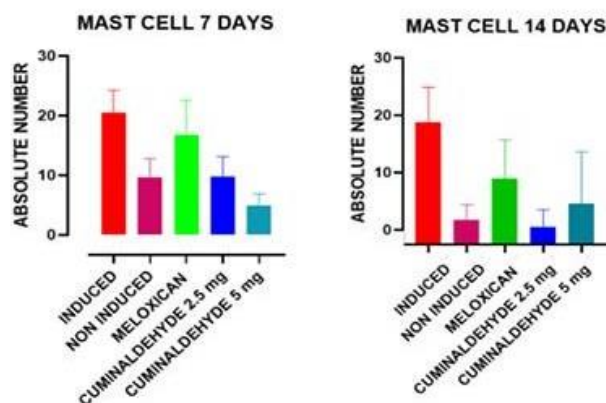


Figure 7. Mast Cell Reduction with Cuminaldehyde. A significant reduction in the absolute number of mast cells was observed in animals treated with cuminaldehyde at a dose of 5 mg/kg compared to the untreated cystitis group, which maintained elevated levels similar to the cystitis control. Data are expressed as the mean $\pm$ confidence interval. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

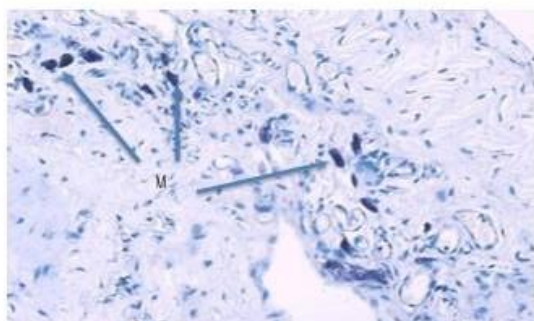


Figure 8. Photomicrograph of the bladder stained with Toluidine Blue (AT). Increased presence of mast cells (M) in the tissue at 40x magnification. Source: Author's own data.

3. CONCLUSÃO

Neste estudo, o cuminaldeído demonstrou afinidade molecular relevante com proteínas e citocinas associadas a processos inflamatórios e de percepção da dor, reforçando seu potencial terapêutico em diferentes contextos biológicos. Os alvos identificados pelos códigos PDB 3ODU, 3RZE, 5IRX e 6LFL participam de vias de sinalização celular e inflamatória, sendo que os estudos de docagem revelaram interações estáveis e energias de ligação favoráveis, especialmente com o complexo 3RZE/cuminaldeído (-6,9 kcal/mol), onde predominaram interações hidrofóbicas, sugerindo estabilidade do complexo, mesmo sem a presença de pontes de hidrogênio. Este padrão de interação indica o potencial do cuminaldeído como ligante em alvos envolvidos na modulação da dor e inflamação.

Além disso, as análises comportamentais utilizando o teste de Von Frey e a escala Grimace evidenciaram tendências de redução de dor nos animais tratados com cuminaldeído, ainda que sem diferença estatística significativa em comparação ao grupo controle. Estes resultados sugerem que, embora o cuminaldeído exerça efeitos anti-inflamatórios e moduladores do recrutamento de mastócitos, sua eficácia em controlar completamente a dor, pode necessitar de ajustes de dose, associação com outros agentes ou desenvolvimento de derivados com maior potência analgésica. Estes achados estão alinhados a estudos que mostram que a escala Grimace, embora sensível para detectar dor, pode apresentar variações conforme o tipo de dor e o agente anti-inflamatório testado.

Na análise histopatológica, o tratamento com cuminaldeído foi associado à redução de mastócitos e menor intensidade de inflamação na bexiga, sem induzir alterações hepáticas graves, ainda que congestão hepática leve a moderada tenha sido observada em todos os grupos, incluindo os tratados com meloxicam e ciclofosfamida. Esses resultados, somados aos dados de docagem, sugerem que o cuminaldeído pode modular citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6, TNF- α e IL-8, ao mesmo tempo em que favorece o equilíbrio imunológico possivelmente por meio de citocinas anti-inflamatórias como IL-10.

Os experimentos realizados para avaliar a expressão gênica do microRNA-146 não demonstraram a expressão detectável. Apesar de sua reconhecida importância na regulação de processos inflamatórios e imunológicos, os resultados sugerem que, nas condições experimentais empregadas, o microRNA-146 pode não ser induzido de forma significativa ou estar abaixo dos limites de detecção utilizados no estudo.

Este conjunto de evidências reforça o potencial do cuminaldeído como candidato adjuvante no manejo da dor e da inflamação na SBD, indicando a necessidade de novos estudos para otimizar sua aplicação e explorar seu uso como protótipo para o desenvolvimento de inibidores enzimáticos e analgésicos de origem natural.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS N. *et al.* Comparative study of hepatoprotective effect produced by *Cuminum cyminum* L. and *Nigella sativa* against cisplatin-induced hepatotoxicity; with histopathological studies. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 9, n. 1, p. 293–301, 2018.
- ALI M. S. *et al.* Spectroscopic and molecular docking investigation on the interaction of cumin components with plasma protein: assessment of the comparative interactions of aldehyde and alcohol with human serum albumin. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 8, p. 4078, 7 abr. 2022.
- AMALIA, R. *et al.* Antibacterial effects of *Cuminum cyminum* L. cyminum extract against enterococcus faecalis biofilms from clinical isolates. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 19, n. 1, 2019.
- AMAYA F. *et al.* Tissue injury and related mediators of pain exacerbation. **Current Neuropharmacology**, v. 11, p. 592–597, 2013.
- ANDERSEN HH, DUROUX M, GAZERANI P. Neurobiology of Disease MicroRNAs as modulators and biomarkers of inflammatory and neuropathic pain conditions. **Neurobiology of Disease**. 2014; 71:159–68.
- ARAI T. *et al.* Molecular pathogenesis of interstitial cystitis based on microRNA expression signature: miR-320 family-regulated molecular pathways and targets. **Journal of Human Genetics**. Maio de 2018;63(5):543–54.
- AUGÉ C. *et al.* Characterization and validation of a chronic model of cyclophosphamide-induced interstitial cystitis/bladder pain syndrome in rats. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 1305, 2020.
- BAHIA M. S. *et al.* Interleukin-1 receptor associated kinase inhibitors: potential therapeutic agents for inflammatory- and immune-related disorders. **Cellular Signalling**, v. 27, n. 6, p. 1039–1055, jun. 2015.
- BERMAN H. M. *et al.* The protein DATA BANK. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 1, p. 235–242, 1 jan. 2000.
- BIRDER L. A. Pathophysiology of interstitial cystitis. **International Journal of Urology**, v. 26, p. 12–15, 2019.
- BOUCHER M. *et al.* Cyclophosphamide-induced cystitis in freely-moving conscious rats: behavioral approach to a new model of visceral pain. **Journal of Urology**, v. 164, n. 1, p. 203–208, jul. 2000.
- BROSSARD C. *et al.* Molecular mechanisms and key processes in interstitial, hemorrhagic and radiation cystitis. **Biology**, v. 11, n. 7, p. 972, 28 jun. 2022. Doi: 10.3390/biology11070972.
- CASSATELLA M. A. *et al.* Interleukin 10 (IL-10) inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear leukocytes. Evidence for an autocrine role of tumor necrosis factor and il-1 beta in mediating the production of il-8

triggered by lipopolysaccharide. **Journal of Experimental Medicine**, v. 178, n. 6, p. 2207–2211, 1 dez. 1993.

CHATZILEONTIADOU D. S. M. *et al.* The many faces of CD4⁺ t cells: immunological and structural characteristics. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 1, p. 73, 23 dez. 2020.

CHEN L.; ZHANG M.; LIANG C. Chronic prostatitis and pelvic pain syndrome: another autoimmune disease? **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 69, 2021.

CHEN O.; DONNELLY C.; JI RR. Regulation of pain by neuro-immune interactions between macrophages and nociceptor sensory neurons. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 62, p. 17–25, 2019

CHENG C.; ROSAMILIA A.; HEALEY M. Diagnosis of interstitial cystitis/bladder pain syndrome in women with chronic pelvic pain: a prospective observational study. **International Urogynecology Journal**, v. 23, n. 10, p. 1361–1366, out. 2012.

CHUNG S. D. *et al.* Correlation between bladder pain syndrome/interstitial cystitis and pelvic inflammatory disease. **Medicine** (Baltimore), v. 94, n. 46, p. e1878, nov. 2015.

CLAUW D. J. Fibromyalgia and related conditions. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 90, n. 5, p. 680–692, maio 2015.

CLEMENS J. Q. *et al.* Diagnosis and treatment of interstitial cystitis/bladder pain syndrome. **Journal of Urology**, v. 208, n. 1, p. 34–42, jul. 2022.

DAVIS N. F.; BRADY, C. M.; CREAGH, T. Interstitial cystitis/painful bladder syndrome: epidemiology, pathophysiology and evidence-based treatment options. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 175, p. 30–37, abr. 2014.

DE MORAIS S. V. *et al.* Impact of cuminaldehyde and indomethacin co-administration on inflammatory responses in mia-induced osteoarthritis in rats. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 5, p. 630, 14 maio 2024.

DI MAIO G. *et al.* Mechanisms of transmission and processing of pain: a narrative review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 4, p. 3064, 9 fev. 2023.

DING Y.; XU J.; BROMBERG J. S. Regulatory t cell migration during an immune response. **Trends in Immunology**, v. 33, n. 4, p. 174–180, abr. 2012.

EBERHARDT J. *et al.* Autodock vina 1.2.0: new docking methods, expanded force field, and python bindings. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 61, n. 8, p. 3891–3898, 23 ago. 2021.

ECHEVERRIA-VILLALOBOS M. *et al.* The role of neuroinflammation in the transition of acute to chronic pain and the opioid-induced hyperalgesia and tolerance. **Frontiers in Pharmacology**, 15 dez. 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2023.1309287/full>. Acesso em: 2 jul. 2025.

EIJKELKAMP N. *et al.* GRK2: a novel cell-specific regulator of severity and duration of inflammatory pain. **Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 6, p. 2138–2149, 10 fev. 2010.

ELIEH ALI KOMI D.; WÖHRL S.; BIELORY L. Mast cell biology at molecular level: a comprehensive review. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 58, n. 3, p. 342–365, jun. 2020.

FALL M. *et al.* Hunner lesion disease differs in diagnosis, treatment and outcome from bladder pain syndrome: an essic working group report. **Scandinavian Journal of Urology**, v. 54, p. 91–98, 2020.

FANG X.X. *et al.* Inflammation in pathogenesis of chronic pain: foe and friend. **Molecular Pain**, v. 19, p. 17448069231178176, 2023.

FERREIRA *et al.*, 2015. Molecular docking and structure-based drug design strategies. **Molecules**. 2015 Jul 22;20(7):13384–421. doi: 10.3390/molecules200713384. PMID: 26205061; PMCID: PMC6332083.

FONG A.; SCHUG S. A. Pathophysiology of pain: a practical primer. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 134, n. 4 suppl 2, p. 8s–14s, out. 2014.

FUNARO M. *et al.* Endoscopic injection of low dose triamcinolone: a simple, minimally invasive, and effective therapy for interstitial cystitis with Hunner lesions. **Urology**, v. 118, p. 25–29, 2018.

GAMPER M. *et al.* Are mast cells still good biomarkers for bladder pain syndrome/interstitial cystitis? **Journal of Urology**, v. 193, n. 6, p. 1994–2000, 2015.

GIANNANTONI A.; GUBBIOTTI M.; BINI V. Botulinum neurotoxin intravesical injections in interstitial cystitis/bladder painful syndrome: a systematic review with meta-analysis. **Toxins**, v. 11, 2019.

GRUNDY L.; ERICKSON A.; BRIERLEY S. M. Visceral pain. **Annual Review of Physiology**, v. 81, p. 261–284, 10 fev. 2019.

HANNO P. M. *et al.* Aua Guideline for the diagnosis and treatment of interstitial cystitis/bladder pain syndrome. **Journal of Urology**, v. 185, n. 6, p. 2162–2170, jun. 2011.

HANNO P. M. *et al.* Diagnosis and treatment of interstitial cystitis/bladder pain syndrome: AUA Guideline Amendment. **Journal of Urology**, v. 193, n. 5, p. 1545–1553, maio 2015.

HASSANEIN E. H. M. *et al.* Edaravone mitigates hemorrhagic cystitis by modulating NRF2, TLR-4/NF-KB, and JAK1/STAT3 signaling in cyclophosphamide-intoxicated rats. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 35, 2021.

HASSANI D. *et al.* How do women with interstitial cystitis/bladder pain syndrome make treatment choices? **International Urogynecology Journal**, 2021.

HUO, YY *et al.* Chemical Constituents of the Essential oil from *Cuminum cyminum* L. *cuminum* L. and Its Antifungal Activity against *Panax notoginseng* Pathogens.

Chemistry & Biodiversity. 2021 Dec;18(12): e2100638. doi: 10.1002/cbdv.202100638. Epub 2021 Nov 16. PMID: 34788487.

INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF PAIN. **IASP Terminology**. 2024.

JIANG, Y. H. et al. Sensory Receptor, Inflammatory, and Apoptotic Protein Expression in the Bladder Urothelium of Patients with Different Subtypes of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome. **Int. J. Mol. Sci.** 24, 820, **2023**.
<https://doi.org/10.3390/ijms24010820>

JIANG Y. H. *et al.* Urine cytokines as biomarkers for diagnosing interstitial cystitis/bladder pain syndrome and mapping its clinical characteristics. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 318, n. 6, p. F1391–f1399, 2020.

JI R. *et al.* Neuroinflammation and central sensitization in chronic and widespread pain. **Anesthesiology**, v. 129, n. 2, p. 343–366, 2018.

JI RR.; CHAMESSIAN A. G.; ZHANG, Y. Q. Pain regulation by non-neuronal cells and inflammation. **Science**, v. 354, p. 572–577, 2016.

KAWASAKI S. *et al.* Selective blockade of transient receptor potential vanilloid 4 reduces cyclophosphamide-induced bladder pain in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 899, p. 174040, 15 maio 2021.

KEMPURAJ D. *et al.* Brain and peripheral atypical inflammatory mediators potentiate neuroinflammation and neurodegeneration. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, 24 jul. 2017. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2017.00216/full>. Acesso em: 2 jul. 2025.

KENDALL H. J.; SCHRIJVERS, J.; HEESAKKERS, J. Current position of neuromodulation for bladder pain syndrome/interstitial cystitis. **Current Opinion in Urology**, v. 34, p. 64–68, 2023.

KOGAN P. et al. Sub-noxious intravesical lipopolysaccharide triggers bladder inflammation and symptom onset in a transgenic autoimmune cystitis model: a mapp network animal study. **Scientific Reports**, v. 8, 2018.

KONSMAN J. P. Immune-to-brain signaling and substrates of altered behavior during inflammation. **Neurosciences**, v. 3, n. 0, p. 207–214, 26 set. 2016.

KOOHSARI S. *et al.* Antinociceptive and antineuropathic effects of cuminaldehyde, the major constituent of *Cuminum cyminum* L. cyminum seeds: possible mechanisms of action. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 255, 2020.

KUO Y.; KUO H. The role of urodynamic study in evaluation of interstitial cystitis/painful bladder syndrome. **Tzu Chi Medical Journal**, v. 25, p. 131–134, 2013.

LAMALE L. M. *et al.* Interleukin-6, histamine, and methylhistamine as diagnostic markers for interstitial cystitis. **Urology**, v. 68, n. 4, p. 702–706, 2006.

LAPPAS M. RAF1 is increased in labouring myometrium and modulates inflammation-induced pro-labour mediators. **Reproduction**, v. 151, n. 4, p. 411–420, abr. 2016.

- LEE H. S. Cuminaldehyde: aldose reductase and alpha-glucosidase inhibitor derived from *Cuminum cyminum* L. Seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 7, p. 2446–2450, 6 abr. 2005.
- LEE S, Feng S, Luo D. Analysis of key genes and micro-RNA-mRNA regulatory networks in women with ulcerative interstitial cystitis/pain bladder syndrome. **International Urogynecology Journal**. 2018;1–9.
- LEE S.M.L. *et al.* RNA Stability in Human Liver: Comparison of Different Processing Times, Temperatures and Methods. **Molecular Biotechnology**. 1o de janeiro de 2013;53(1):1–8.
- LEE T. G. *et al.* High-definition ultrasound characterization of acute cyclophosphamide-induced cystitis in the mouse. **Investigative and Clinical Urology**, v. 61, p. 75–80, 2019.
- LIN HY. *et al.* Urinary Biomarkers in Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome and Its Impact on Therapeutic Outcome. **Diagnostics (Basel)**. 2021 Dec 29;12(1):75.
- LIU H. T. *et al.* Differences in mast cell infiltration, e-cadherin, and zonula occludens-1 expression between patients with overactive bladder and interstitial cystitis/bladder pain syndrome. **Urology**, v. 80, n. 1, p. 225.e13–225.e18, 2012.
- MARCU I.; CAMPIAN E. C.; TU, F. F. Interstitial cystitis/bladder pain syndrome. **Seminars in Reproductive Medicine**, v. 36, n. 2, p. 123–135, mar. 2018.
- MATSUDA M.; HUH Y.; JI R. Roles of inflammation, neurogenic inflammation, and neuroinflammation in pain. **Journal of Anesthesia**, v. 33, p. 131–139, 2019.
- MEERVELD B. G. V.; JOHNSON, A. C. Mechanisms of stress-induced visceral pain. **Journal of Neurogastroenterology and Motility**, v. 24, n. 1, p. 7–18, 30 jan. 2018.
- MESSELINK B. *et al.* Chronic pelvic pain; more than just the bladder. **Current Opinion in Urology**, v. 34, n. 2, p. 69–76, 1 mar. 2024.
- MILLER D. K. *et al.* Purification and characterization of active human interleukin-1 beta-converting enzyme from THP.1 monocytic cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, n. 24, p. 18062–18069, 25 ago. 1993.
- MORSHEDI D. *et al.* Cuminaldehyde as the major component of *Cuminum cyminum* L. cyminum, a natural aldehyde with inhibitory effect on alpha-synuclein fibrillation and cytotoxicity. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 10, p. H2336–h2345, out. 2015.
- MUKAI K. *et al.* Mast cells as sources of cytokines, chemokines, and growth factors. **Immunological Reviews**, v. 282, p. 121–150, 2018.
- MURPHY S.; SCHAEFFER A.; THUMBIKAT P. Immune mediators of chronic pelvic pain syndrome. **Nature Reviews Urology**, v. 11, p. 259–269, 2014
- OSMAN N. *et al.* A systematic review of surgical interventions for the treatment of bladder pain syndrome/interstitial cystitis. **European Urology Focus**, 2020.
- PARISIEN M. *et al.* Acute inflammatory response via neutrophil activation protects against the development of chronic pain. **Science Translational Medicine**, v. 14, n. 644, eabj9954, 11 mai. 2022.

- PARSONS C. *et al.* Heparin and alkalinized lidocaine versus alkalinized lidocaine for treatment of interstitial cystitis symptoms. **The Canadian Journal of Urology**, v. 22, n. 2, p. 7739–7744, 2015.
- PAUL, A. *et al.* Exploring the therapeutic potentials of cuminaldehyde: a comprehensive review of biological activities, mechanisms, and novel delivery systems. **Phytochemistry Reviews**. 2025.
- PLEKHANOVA O. A.; KOCHETOV, A. G.; BAIKOV, N. A. Endoscopic diagnostics of bladder pain syndrome/interstitial cystitis. **Bulletin of the Medical Institute of Continuing Education**, 2023.
- RAJA S. N. *et al.* The revised international association for the study of pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, 9 jan. 2020. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001939. PMID: 32694387; PMCID: PMC7680716.
- ROCHA J. A. *et al.* Computational quantum chemistry, molecular docking, and admet predictions of imidazole alkaloids of pilocarpus microphyllus with schistosomicidal properties. **Plos One**, v. 13, n. 6, e0198476, 2018
- SHAN H. *et al.* Differential expression of histamine receptors in the bladder wall tissues of patients with bladder pain syndrome/interstitial cystitis – significance in the responsiveness to antihistamine treatment and disease symptoms. **BMC Urology**, v. 19, 2019.
- SHEIKHOLESLAMI M., *et al.* Analgesic effects of cuminic alcohol (4-isopropylbenzyl alcohol), a monocyclic terpenoid, in animal models of nociceptive and neuropathic pain: Role of opioid receptors, L-arginine/NO/cGMP pathway, and inflammatory cytokines. **European Journal of Pharmacology**. 2021 Jun 5; 900:174075. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174075. Epub 2021 Mar 31. PMID: 33811835.
- SINGH N. *et al.* A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and clinical research of dietary spice *Cuminum cyminum* L. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 9, p. 5007–5030, set. 2021.
- SONG P. *et al.* Comparison of 5 different rat models to establish a standard animal model for research into interstitial cystitis. **International Neurourology Journal**, v. 21, p. 163–170, 2017.
- SUCIC M. *et al.* Therapy of the rat hemorrhagic cystitis induced by cyclophosphamide. Stable gastric pentadecapeptide BPC157, l-arginine, l-name. **European Journal of Pharmacology**, v. 861, p. 172593, 15 out. 2019.
- TAGHIZADEH M. *et al.* Effect of the *Cumin cyminum* L. Intake on Weight Loss, Metabolic Profiles and Biomarkers of Oxidative Stress in Overweight Subjects: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. **Annals Nutrition Metabolism**. 2015;66(2-3):117-124. doi: 10.1159/000373896. Epub 2015 Mar 3. PMID: 25766448.
- TAVAKOLI HR *et al.* Antimicrobial Activities of the Combined Use of *Cuminum cyminum* L. Essential Oil, Nisin and Storage Temperature Against Salmonella typhimurium and Staphylococcus aureus In Vitro. **Jundishapur J Microbiol**. 2015 Apr

18;8(4):e24838. doi: 10.5812/jjm.8(4)2015.24838. PMID: 26034554; PMCID: PMC4449852.

TOMY M. J. *et al.* Cuminaldehyde as a lipoxygenase inhibitor: in vitro and in silico validation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 174, n. 1, p. 388–397, 2014.

TREEDE R. D. *et al.* Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). **Pain**, v. 160, n. 1, p. 19–27, jan. 2019.

TROTT O.; OLSON A. J. Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455–461, 30 jan. 2010.

WALTERS E.T. Adaptive mechanisms driving maladaptive pain: how chronic ongoing activity in primary nociceptors can enhance evolutionary fitness after severe injury. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**. 2019 Nov 11;374(1785):20190277.

WANG C. C. *et al.* Involvement of interleukin-6-regulated nitric oxide synthase in hemorrhagic cystitis and impaired bladder contractions in young rats induced by acrolein, a urinary metabolite of cyclophosphamide. **Toxicological sciences**, v. 131, n. 1, p. 302–310, 2013.

WANG S. *et al.* Interleukin-10 deficiency impairs regulatory t cell-derived neuropilin-1 functions and promotes Th1 and Th17 immunity. **Scientific Reports**, v. 6, 2016.

WARREN J. *et al.* Urinary symptoms as a prodrome of bladder pain syndrome/interstitial cystitis. **Urology**, v. 83, n. 5, p. 1035–1040, 2014.

WENNEVIK G. *et al.* The role of glomerulations in bladder pain syndrome: a review. **Journal of Urology**, v. 195, n. 1, p. 19–25, 2016.

WILSON K. P. *et al.* Structure and mechanism of interleukin-1 beta converting enzyme. **Nature**, v. 370, n. 6487, p. 270–275, 28 jul. 1994.

WOOLF C. J.; American College of Physicians; American Physiological Society. Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. **Annals of Internal Medicine**, v. 140, n. 6, p. 441–451, 16 mar. 2004.

ZHANG J. Z.; ZHANG, P.; WU, L.; WANG, Y. Efficacy and safety of urinary diversion in patients with refractory interstitial cystitis/bladder pain syndrome. **Chinese Journal of Urology**, v. 40, p. 561–566, 2

ZIRAK M. *et al.* Tropisetron ameliorates cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in rats. **European Journal of Pharmacology**, 2020.

ANEXOS

Anexo I - Comprovante de submissão

16/06/2025, 19:46

Gmail - [ABS] Submission Acknowledgement



Tereza Cristina Melo <terezacrismel@gmail.com>

[ABS] Submission Acknowledgement

Goran Poznanović <abs@ibiss.bg.ac.rs>
Para: TEREZA MELO <terezacrismel@gmail.com>

16 de junho de 2025 às 19:30

Dear TEREZA MELO:

Thank you for submitting the manuscript, "CUMINALDEHYDE AS AN ANTI-INFLAMMATORY AND IMMUNOMODULATORY AGENT IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF INTERSTITIAL CYSTITIS" to Archives of Biological Sciences. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Manuscript URL: <https://www.serbiosoc.org.rs/arch/index.php/abs/authorDashboard/submission/11130>
Username: terezacrismel

IMPORTANT

CHECK YOUR SUBMISSION:

A submission will not be considered for peer review until all details (affiliation, country, ORCID) for all authors have been entered by the corresponding author in the METADATA FIELD on the submission web page in the online system.

In all future correspondence please mention the manuscript ID.

If we have any additional queries regarding your submission we will contact you within the next few days.

Goran Poznanović

ABS <http://www.serbiosoc.org.rs/arch/index.php/dsf>