

Cátia Alexandra Pereira Ramos

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em
patologias articulares

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2016

Cátia Alexandra Pereira Ramos

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em
patologias articulares

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2016

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em
patologias articulares

(assinatura)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos
requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Resumo

Atualmente, a população mundial apresenta frequentemente dores nas articulações, sendo um dos principais motivos de consulta médica e o principal motivo de invalidez. As doenças articulares afetam o aparelho locomotor, levando a sensação de dor e limitação de mobilidade.

Nos dias de hoje, as pessoas encontram-se insatisfeitas com os recursos terapêuticos existentes, procurando soluções alternativas. As terapias não convencionais, como a fitoterapia tem sofrido um aumento significativo, pois são capazes de solucionar ou auxiliar um vasto leque de problemas de saúde. O zimbro, apesar de se conhecer os seus constituintes e as suas ações farmacológicas é ainda um pouco subestimado como um agente terapêutico.

Neste estudo avaliou-se o poder analgésico do óleo essencial de zimbro em patologias articulares, tendo como foco principal os utentes da Unidade de Medicina Física e de Reabilitação do Hospital Escola Universidade Fernando Pessoa (HE-UFP).

Nesta perspetiva, o objetivo geral desta investigação foi avaliar as propriedades analgésicas do óleo essencial de zimbro na diminuição da dor articular nos membros superiores e inferiores.

O estudo foi elaborado de acordo com os princípios da declaração de Helsinki e aprovado pelo comité de ética do Hospital Escola Fernando Pessoa. Trata-se de um estudo duplo cego, controlado por placebo, em que os participantes aceitaram livremente participar nele. Esta investigação contou com 50 indivíduos, de ambos os sexos, com idades compreendidas entre 22 e 88 anos. O questionário englobou dados socio demográficos, como idade, sexo, e também a existência de patologias respiratórias, medicação e tipo de dor. Foram ainda questionados quanto à intensidade da sua dor antes e após a inalação, através da escala numérica de dor.

A amostra foi dividida aleatoriamente em 2 grupos, o grupo placebo que inalou o óleo de sésamo (n= 25) e o grupo zimbro que recebeu o tratamento com o óleo essencial de zimbro (n=25). A terapia consistiu numa inalação dos óleos durante 15 minutos.

Após análise individual dos parâmetros do questionário efetuou-se o teste de Wilcoxon, através do Statistical Package for Social Sciences (SPSS). Os resultados foram analisados estaticamente com um nível de significância de 5% ($p\text{-value}<0.05$). No grupo zimbro, 19 inqueridos apresentaram uma diminuição significativa da

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

intensidade de dor, enquanto que no grupo controle apenas 7 pessoas apresentaram diminuição da dor.

Através dos resultados obtidos, pode-se concluir que há uma diminuição estatisticamente significativa na intensidade de dor nos pacientes que inalaram o óleo essencial de zimbro. Apesar dos resultados serem promissores, são ainda necessários mais estudos para reconhecer os motivos da diminuição da dor e os mecanismos de ação inerentes, com vista ao melhoramento desta terapia.

Palavras chave: Óleo essencial de zimbro, Dor Articular, Anti-inflamatório, Analgésico

Abstract

Currently the world population often suffers from joint pain, one of the leading reasons to medical consultation and also the main reason for disability. Joint diseases affect the locomotor system causing pain and limited mobility.

Nowadays, people are not satisfied with the existing therapeutic resources seeking for alternative solutions. Unconventional therapies such as phytotherapy are significantly increasing, as they are able to solve or assist a wide range of health problems. Although the constituents and pharmacological actions of the Juniper are known, is still somewhat underestimated as a therapeutic agent.

This study evaluated the analgesic power of juniper's essential oil in articular pathologies, focusing mainly on patients of the Unidade de Medicina Física e de Reabilitação do Hospital Escola da Universidade Fernando Pessoa (HE-UFP). So the main purpose of this research was to evaluate the analgesic properties of juniper's essential oil in reducing joint pain in the upper and lower limbs.

The study was prepared in accordance with the Declaration of Helsinki principles and approved by the Ethics Committee of the Hospital-Escola da Universidade Fernando Pessoa. This was a double-blind, placebo-controlled study in which the participants freely agreed to participate. This research included 50 individuals of both genders, aged between 22 and 88 years old. The quiz/questionnaire comprised social demographic data such as age, sex, and also the existence of respiratory pathologies, medication and type of pain. They were also questioned about the intensity of pain before and after inhalation through a numeric pain scale.

The sample was randomly divided into 2 groups: placebo group who inhaled sesame oil (n=25) and juniper group who received treatment with juniper's essential oil (n=25). The therapy consisted of oil inhalation for 15 minutes.

After an individual analysis of the quiz/questionnaire parameters, the Wilcoxon test was executed, using SPSS. The results were analysed statistically with a 5% significance level (p-value<0.05). In the juniper group, 19 surveyed showed a significant decrease in the pain intensity, whereas the control group only 7 showed a decrease in pain.

From the obtained results it can be concluded that there is a statistically significant decrease in the intensity of pain in patients inhaling the juniper's essential oil. Although the results are promising, further studies are needed for the improvement

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

of this therapy, to understand what's behind the pain reduction and the inherent action mechanisms.

Key-words: Essential oils of juniper, Joint pain, Anti-inflammatory, Analgesic

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Agradecimentos

Em primeiro lugar queria agradecer à Professora Doutora Cristina Abreu por toda a disponibilidade e apoio ao longo da realização deste trabalho.

Aos utentes participantes e a todos os fisioterapeutas do Hospital Escola Fernando Pessoa, agradeço por terem contribuído para a realização desta investigação.

Deixo ainda um agradecimento muito especial aos meus pais, aos meus irmãos, Bruno e Andreia, ao meu namorado e aos meus amigos por todo o carinho, paciência e apoio ao longo desta fase.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Índice

Capítulo I- Introdução	16
1.1 Patologias articulares	16
1.2 Terapias não convencionais	19
1.2.1 – Fitoterapia	19
1.2.1.1 Aromaterapia	21
1.3 Óleos essenciais	24
1.3.1 Plantas medicinais	24
1.3.2 Características gerais dos óleos essenciais	24
1.3.3 Métodos de extração.....	25
1.3.4 Constituintes dos óleos essenciais	27
1.3.5. Biossíntese dos terpenos	28
1.3.6 Propriedades farmacológicas.....	29
1.3.7 Segurança.....	31
1.4 Zimbro	33
1.4.1 Óleo essencial de zimbro	35
1.4.1.1 Constituintes	36
1.4.1.2 Propriedades farmacológicas.....	37
1.4.1.2.1 Potencial anti-inflamatório.....	37
1.4.1.2.2 Potencial Analgésico	38
1.4.1.2 Efeitos adversos do óleo essencial de zimbro	41
1.5 Objetivos e hipóteses de estudo.....	42
1.5.1 Objetivo geral.....	42
1.5.2 Objetivos específicos	42
1.5.3. Hipóteses de estudo	42
Capítulo II- Metodologia	43
2.1. Descrição do estudo.....	43
2.2. Caracterização da amostra	43
2.2.1 Critérios de inclusão	43
2.2.2 Critérios de exclusão.....	43
2.3. Princípios éticos	43
2.4. Variáveis dependentes e independentes.....	44
2.5. Instrumentos de recolha de dados	44
2.6. Procedimento	44
2.7. Tratamento estatístico.....	45
Capítulo III- Resultados	46

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

3.1. Caracterização da amostra	46
3.1.1. Género	46
3.1.2. Idade	47
3.2. A dor.....	48
3.2.1. Tipo de dor	48
3.2.2. Comparação dos níveis de dor antes e após a inalação.....	49
Capítulo IV- Discussão.....	53
Capítulo V- Conclusão	57
Capítulo VI- Referências bibliográficas.....	59
Anexos.....	73

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Índice de figuras

Figura 1- Molécula de isopreno	27
Figura 2- Biossíntese dos terpenos	29
Figura 3- Bagas de zimbro	34
Figura 4 - Estruturas químicas dos componentes principais do óleo essencial de zimbro.....	36

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em
patologias articulares

Índice de gráficos

Gráfico 1- Distribuição dos participantes da amostra total por sexo	46
Gráfico 2- Tipo de dor da amostra total	49

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Índice de tabelas

Tabela 1- Género da amostra	46
Tabela 2- Idade da amostra	47
Tabela 3- Tipo de dor da amostra	48
Tabela 4- Teste da normalidade	49
Tabela 5- Dor antes e após inalação do “grupo placebo”	48
Tabela 6- Teste de Wilcoxon do “grupo placebo”	49
Tabela 7- Dor antes e após inalação do “grupo zimbro”	50
Tabela 8- Teste de Wilcoxon do “grupo zimbro”	51

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Abreviaturas

AINEs- anti inflamatórios não esteroides

AMPc- adenosina monofosfato cíclico

APED- Associação portuguesa para o estudo da dor

ATP- adenosina trifosfato

cAMP- adenosina monofosfato cíclica

CO₂- dióxido de carbono

COX- via da ciclooxigenase

DMAPP- pirofosfato de dimetilalila

DNA- ácido desoxirribonucleico

DXP- 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato

ESCOP- European Scientific Cooperative on Phytotherapy

HEUFP- Hospital Escola Universidade Fernando Pessoa

HETEs- ácidos hidroxieicosatetraenoicos

IASP - International Association for the study of pain

IPP- pirofosfato de isopentenila

LOX- via lipoxigenase

MMP- metaloproteinases de matriz

NCCAM- National Center for Complementary and Integrative Health

PGE₂-prostaglandina E₂

SPSS- Statistical Package for Social Sciences

WHO- World Health Organization

Capítulo I- Introdução

1.1 Patologias articulares

As articulações são regiões de união entre dois ou mais ossos ou partes de ossos do esqueleto. São responsáveis pela mobilidade e estabilização das zonas de união entre as várias partes do corpo (Sociedad Española de Reumatología, 2010). Os componentes de uma articulação trabalham conjuntamente para facilitar o movimento e diminuir o risco de lesões (Moore *et al.*, 2014). De acordo com o tipo de material as articulações podem ser divididas em três grupos distintos.

As articulações mais comuns são as articulações sinoviais, também designadas de diartroses. São constituídas por uma cavidade articular envolvida por uma cápsula articular que mantém os ossos unidos, permitindo um movimento considerável entre os ossos que aí se articulam. Possuem ainda, uma membrana sinovial que produz um líquido sinovial responsável pela lubrificação da articulação. As articulações como a do joelho possuem ainda meniscos que aumentam a força e a resistência da articulação (Moore *et al.*, 2014; Seeley *et al.*,2011).

Já as articulações fibrosas ou sinartroses são unidas por tecido fibroso sem cavidade articular. Apesar de algumas articulações deste grupo não possuírem nenhum movimento, há algumas que apresentam um movimento muito reduzido, dependendo do comprimento das fibras que unem os ossos. De acordo com o local onde se encontram podem ser classificadas como suturas, presentes entre os ossos do crânio, sindesmoses presentes entre os ossos longos do esqueleto apendicular do antebraço e da perna, e gonfose presente entre os dentes e as cavidades ósseas alveolares (Sociedad Española de Reumatología, 2010; Seeley *et al.*,2011).

Por fim as articulações cartilagíneas, que também recebem o nome de anfiartroses, são envolvidas por cartilagem hialina ou fibrocartilagem (Moore *et al.*, 2014). Quando os ossos são unidos por cartilagem hialina, as articulações são imóveis e recebem o nome de sincondroses. Já as sínfises são constituídas por fibrocartilagem e apresentam um ligeiro movimento (Seeley *et al.*, 2011).

Devido à sua utilização constante, as articulações estão sujeitas a traumas e por vezes a peso excessivo, que levam por vezes a alterações inflamatórias e degenerativas. Os problemas articulares englobam um vasto leque de patologias e

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

condições que afetam milhões de pessoas em todo o mundo, que mencionam dor articular, rigidez e limitações de movimentos (IASP, 2016).

As patologias articulares podem ser agudas ou crônicas, e podem ter graves repercussões físicas, psicológicas e socioeconômicas. A artrite é a patologia mais comum entre as doenças articulares, destacando-se a osteoartrose e a artrite reumatóide (Brouwers *et al.*, 2015). É caracterizada pela inflamação nas articulações sinoviais, levando a destruição da cartilagem articular que leva à perda de mobilidade e a sensação de dor. As metaloproteinases de matriz (MMP) tem um papel relevante na degradação da cartilagem. Através de mediadores inflamatórios, os condrócitos e as células sinoviais secretam MMP, que depois são armazenados e ativados após clivagem (Yoshihara *et al.*, 2000). O aparecimento de artrite pode dever-se a variadas causas, desde agentes infecciosos, perturbações metabólicas, traumatismos e doenças da imunidade (Sociedad Española de Reumatología, 2010; Brouwers *et al.*, 2015).

A osteoartrose é o tipo mais comum de artrite, quer pelo número de consultas que ocasiona, quer pelo consumo de fármacos, pelas repercussões na atividade laboral dos doentes e pelo impacto que causa na qualidade de vida dos doentes (Cardoso *et al.*, 2005). A osteoartrose atinge cerca de um quinto da população mundial, tendo maior prevalência no sexo feminino, e em pessoas mais velhas, tornando-se praticamente generalizada a partir dos setenta anos (Bial, 2016). É uma doença fundamentalmente relacionada com a lesão degenerativa da cartilagem articular envolvendo toda a articulação (Liga Portuguesa contra as Doenças Reumáticas, 2014). Atinge as articulações sinoviais e caracteriza-se por apresentar alterações na cartilagem articular, dando origem a zonas de fibrilação e fissuração (Marques e Kondo, 1998). Devido ao desgaste da cartilagem, os ossos friccionam-se entre si, levando a edema, perda de movimento da articulação e a dor (Pelletier, 2001). Pode ainda desenvolver-se osteófitos que se projetam para o espaço articular, provocando mais inflamação e limitação funcional. Normalmente as articulações mais afetadas são as articulações dos dedos, das mãos, da coluna vertebral, das ancas, dos joelhos e dos pés (Bial, 2016). Pode ser considerada como o resultado final de uma resposta fisiológica de um processo de reparação de cartilagem após uma agressão (Sharma, 2016). Os efeitos da osteoporose estão a aumentar, com o aumento da esperança de vida e os efeitos da carência de estrogénios nas mulheres, como também os hábitos tabágicos, o consumo de

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

álcool e a falta de atividade física (Liga Portuguesa contra as Doenças Reumáticas, 2014).

A artrite reumatóide, que afeta cerca de 1% da população mundial, é uma doença degenerativa, sistémica, auto-imune e crónica, com inflamação articular e dano estrutural que leva a destruição tecidual, a dor e a deformidades (Corbacho e Dapuetto, 2010). Caracteriza-se por dor crónica e destruição articular que acarreta deficiência física com altos custos socioeconómicos e redução na qualidade de vida do paciente (Torigoe e Laurindo, 2006). São várias etiologias propostas para a artrite reumatóide, nomeadamente fatores genéticos, alterações na imunorregulação e mecanismos que levam ao dano tecidual (Ozkan et al., 2007). As células do líquido sinovial e tecido conjuntivo multiplicam-se, originando o *pannus*, característico da artrite reumatóide, que leva ao espaçamento da cápsula articular, destruindo-a. O potencial da inflamação sinovial pode causar danos na cartilagem e erosão no osso com alterações da integridade articular. Afeta normalmente pequenas articulações, como a das mãos e a dos pés (Seeley et al., 2011).

O foco do tratamento da artrite é diminuir a dor e evitar possíveis danos no futuro. Para tratar as patologias articulares é necessário ter em conta o tipo e a gravidade da patologia existente, sendo que o objetivo principal se considera reduzir a inflamação. Assim, para diminuir a inflamação e auxiliar o controlo da dor poderá ser administrado, por exemplo um anti-inflamatório não esteróide (AINE). Porém quando é necessário um tratamento mais agressivo poderão ser utilizados corticosteróides, como a prednisona, e também medicamentos imunossuppressores, de modo a suprimir a resposta imunitária reduzindo assim a inflamação (Merck Sharp e Dohme, 2016; Sociedad Española de Reumatología, 2010).

Poderá ainda recorrer-se a tratamento não farmacológicos, em que se pode destacar a fisioterapia, fitoterapia, hipnose e a estimulação elétrica nervosa transcutânea, além disso os benefícios do exercício físico são amplamente reconhecidos (APED, 2003). Relativamente a fitoterapia, estudos revelam que incenso (*Boswellia serrata*), garra do diabo (*Harpagophytum procumbens*), prímula (*Oenothera biennis L.*), óleo de borragem (*Borago officinalis L.*) e groselha negra (*Ribes nigrum L.*), casca do salgueiro (*Salix spp.*), unha de gato (*Uncaria guianensis*) e também o zimbro (*Juniperus*

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

communis) apresentam constituintes com propriedades anti inflamatórias e analgésicas úteis nos tratamentos da artrite (Rosa e Machado, 2007 e Elmastas *et al.*, 2007).

1.2 Terapias não convencionais

1.2.1 – Fitoterapia

As terapias não convencionais traduzem-se num conjunto de técnicas de cuidados de saúde, que não se encontram integradas na prática comum de determinados países e não se inserem nos seus sistemas de saúde (WHO, 2000). Referem-se a um conjunto de diversas práticas que partem de uma base filosófica diferente da medicina convencional aplicando métodos específicos de tratamento (NCCAM, 2008, Lei nº 45/2003). Segundo o Decreto-Lei n.º 45/2003, os princípios orientadores das terapêuticas não convencionais são:

1 - O direito individual de opção pelo método terapêutico, baseado numa escolha informada, sobre a inocuidade, qualidade, eficácia e eventuais riscos.

2 - A defesa da saúde pública, no respeito do direito individual de proteção da saúde.

3 - A defesa dos utilizadores, que exige que as terapêuticas não convencionais sejam exercidas com um elevado grau de responsabilidade, diligência e competência, assentando na qualificação profissional de quem as exerce e na respetiva certificação.

4 - A defesa do bem-estar do utilizador, que inclui a complementaridade com outras profissões de saúde.

5 - A promoção da investigação científica nas diferentes áreas das terapêuticas não convencionais, visando alcançar elevados padrões de qualidade, eficácia e efetividade.

Atualmente, técnicas como a acupuntura, homeopatia, fitoterapia, hidroterapia, têm conquistado alguma popularidade não só entre os consumidores, mas também entre os profissionais de saúde, sendo tais técnicas, capazes de tratar a mente, o corpo e o espírito (Sánchez *et al.*, 2014).

A fitoterapia é uma terapia não convencional definida como uma ciência que recorre ao uso de produtos vegetais para prevenir, atenuar ou curar um determinado estado patológico (García *et al.*, 2008). A sua prática baseia-se no emprego tanto das

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

plantas inteiras como parte delas e também de preparações feitas a partir delas (Weiss e Fintelmann, 2000).

O conhecimento sobre as propriedades medicinais das plantas era transmitido entre gerações, selecionando as plantas com maior interesse terapêutico para a sua aplicação. Inicialmente, o uso de produtos vegetais era feito de forma empírica transmitido oralmente sendo apenas mais tarde registado em livros. Com o aparecimento da síntese química, capaz de produzir novos compostos a partir de substâncias químicas, o uso da fitoterapia sofreu um declínio, principalmente em países desenvolvidos. Contudo nos anos 60 surgiu um interesse renovado desta terapia, sendo usada até em formas farmacêuticas mais elaboradas como cápsulas e comprimidos. Este renovado interesse deveu-se ao uso da automedicação, ao aparecimento de novas informações sobre plantas medicinais, maior eficácia no controlo de qualidade, introdução no mercado de novas formas farmacêuticas e uma legislação específica para a fitoterapia (Cunha *et al.*, 2003).

A fitoterapia é empregue por toda a população mundial. Contudo os motivos ao seu recurso são os mais diversificados, nomeadamente nos países em desenvolvimento onde é utilizada como uma prática de cuidados de saúde primários, uma vez que os serviços de saúde são limitados. Já nos países desenvolvidos, como os países europeus, é usada como uma terapia complementar (WHO, 2013). Na verdade, a Europa é a maior consumidora de produtos fitoterápicos com uma percentagem de 33%, seguindo-se a Ásia com 25%. Na Europa, a Alemanha, França e a Itália são os países com mais admiradores (Institute for Healthcare Informatics, 2014, WHO, 2008).

Tal terapia baseia-se em 3 pilares fundamentais, sendo eles, a qualidade, a segurança e a eficácia (European Medicines Agency, 2004). De modo a existir uma harmonização adequada destes critérios, foram criadas várias instituições, como a Comissão E e European Scientific Cooperative on Phytotherapy (ESCOP) que elaboram estudos relativos às plantas medicinais (Wagner, 2006).

No que concerne aos problemas de qualidade, por existir uma grande variedade de constituintes os seus princípios ativos, por vezes não são bem conhecidos por isso é necessário, que a identidade da planta esteja bem esclarecida, nomeadamente, através de características macroscópicas e microscópicas, organoléticas e perfis

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

cromatográficos, para além destas características é também necessário que a pureza seja completamente garantida (Cangueral, 2002).

Já no que respeita à segurança, apesar dos produtos vegetais terem um larga janela terapêutica, a referida segurança não é total, por isso é necessário a existência de documentos, como as monografias com informação científica sobre sua toxicidade, interações, contraindicações, doses recomendadas, requisitos de controlo da qualidade e condições recomendadas de armazenamento e também mutagenicidade (Cangueral, 2002). Nesse sentido a Organização Mundial de Saúde elaborou diversos documentos sobre plantas medicinais, incluindo normas e guias de conservação, investigação e avaliação de segurança e eficácia, controlo da qualidade e normas de recomendação (Infarmed, 2008).

Quanto à eficácia da fitoterapia poderá ser avaliada através de diferentes parâmetros, apesar de não terem a mesma relevância. O conhecimento dos princípios ativos permite-nos relacionar as estruturas químicas com determinada atividade, estabelecendo-se assim uma relação direta causa-efeito. Porém a eficácia de uma planta ou parte dela poderá não ser igual à dos princípios ativos isolados, além de nem sempre se conhecer os constituintes responsáveis pela sua atividade. Assim, a eficácia é plausível tendo em conta os conhecimentos adquiridos através da utilização e experiência de longa data. Estes conhecimentos poderão ser obtidos através de informações médicas documentadas de forma científica, estudos epidemiológicos ou até mesmos de ensaios clínicos. (Cangueral, 2002).

1.2.1.1 Aromaterapia

A aromaterapia é um ramo da fitoterapia que visa promover a saúde e o bem estar através do uso direto ou indireto de óleos essenciais (Ali *et al.*, 2015). A etimologia do termo aromaterapia resulta da combinação das duas palavras aroma e terapia, que se traduzem em várias práticas que envolvem substâncias odoríferas encontradas em elevadas concentrações nas flores, folhas, caule, raízes e frutos das plantas (Edris, 2007). Os óleos essenciais apresentam uma estrutura química muito complexa e diversificada, apresentando diversas características terapêuticas (Thorgrimsen *et al.*, 2007). A aromaterapia utiliza métodos que permitem a abordagem de diversos problemas de saúde, que são aplicados de acordo com critérios de segurança, custo-benefício, aceitação e exequibilidade (Andrei e Comune, 2005).

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Historicamente, esta técnica é usada há milhares de anos em países como Egito e Índia, para tratamento de diversas patologias (Cooke e Ernst, 2000). Apesar disso, o termo só surge quando o químico René-Maurice Gattefosse, em 1920, depois de sofrer uma queimadura na mão a mergulhou acidentalmente no óleo essencial de alfazema (*Lavandula angustifolia*), o que aliviou a sua dor e o auxiliou na sua recuperação. Também durante a II Guerra Mundial, Jean Valnet tratou feridas e queimaduras dos soldados com recurso aos óleos essenciais como o de tomilho e de camomila (Longe *et al.*, 2004).

A aromaterapia deve ser abordada como um método de tratamento natural, complementar, preventivo e curativo, à base de plantas, que trata uma grande variedade de doenças (Peres e Comune, 2005). Os óleos essenciais podem atuar a nível psicológico e a nível físico (Horowitz, 2011). Relativamente à ação psicológica encontra-se relacionada com a estimulação do sistema límbico. Quanto à sua ação a nível físico deve-se às características dos diferentes constituintes dos óleos essenciais que podem atuar como antioxidantes, anti inflamatórios, analgésicos, antifúngicos, entre outros (Cunha *et al.*, 2012). O sucesso da terapia depende da conjugação destas 2 formas de ação, e também de fatores como a qualidade do óleo essencial, o método de aplicação e as precauções a tomar (Andrei e Comune, 2005, Cunha *et al.*, 2012). Tem aplicações em vários estados patológicos, atuando nas diversas áreas de saúde. Como exemplo, os óleos essenciais podem reduzir a ansiedade e o stress, melhorando o humor, tratar feridas ou auxiliar em distúrbios respiratórios (Wilkinson, 2004). Estes efeitos tem sido estudados ao longo do tempo, nomeadamente, em doentes internados em hospitais que foram sujeitos a ensaios com misturas de óleo essenciais (óleos essenciais de manjerição, zimbro, lavanda e sândalo), relatando efeitos benéficos no relaxamento, stress e ansiedade e melhorando a qualidade do seu sono, o que colaborou na sua recuperação (Cannard, 1996).

O emprego dos óleos essenciais em aromaterapia pode ser feito através de diferentes modos, nomeadamente por via tópica, como massagens e banhos, inalação e ingestão direta dos óleos, sendo esta a via menos utilizada (Smith *et al.*, 2011). Quando se recorre à via tópica, os óleos possuem uma ação sistémica, pois as moléculas que os compõem penetram através das várias camadas da pele e atingem a corrente sanguínea. A fricção, característica das massagens, auxilia a absorção dos óleos, estimulando a circulação sanguínea; o período de tempo de absorção pode variar entre sete a dez

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

minutos, sendo influenciado pela gordura subcutânea, retenção de água e má circulação. Outra aplicação referida é o banho. Quando se adiciona os óleos essenciais à água quente, estes são rapidamente volatilizados, o que vai auxiliar a penetração de algumas moléculas por inalação, estimulando as terminações nervosas do olfato; é útil tanto no tratamento de insónias como no stress. A inalação promove uma ação ampla, uma vez que os óleos vão penetrar na corrente sanguínea e estimular o bolbo olfativo e, conseqüentemente o sistema límbico. Este facto deve-se ao baixo peso molecular e a volatilidade característica dos óleos (Ryman , 1995).

Como referido, a componente volátil dos óleos essenciais atua de diversas formas no organismo, atuando em dois sistemas fisiológicos: sistema circulatório e límbico (Andrei e Comune, 2005). Quando inalado, apenas uma pequena percentagem do óleo essencial ativa o sistema olfativo, composto pelos nervos olfativos que comunicam com o sistema nervoso central, mais precisamente com o sistema límbico, responsável pelas emoções, comportamentos e memórias (Catani *et al.*, 2013). Ou seja, quando o óleo é inalado gera um sinal nas células recetoras no nariz, que é transmitido ao sistema límbico e ao hipotálamo através do bolbo olfativo. Estes sinais provocam a libertação de mensageiros como a serotonina e endorfinas, proporcionando uma sensação de bem-estar (Ali *et al.*, 2015). Outra parte do óleo essencial alcança a corrente sanguínea através do sistema respiratório, sendo conduzido até os órgãos e tecidos do corpo (Gnatta *et al.*,2011).

O olfato deteta e identifica compostos voláteis a partir do ambiente, sendo as células olfativas as responsáveis por receber os estímulos olfativos. A perceção do odor envolve uma rede de vias encontradas no bolbo olfativo espalhados por todo o cérebro incluindo o córtex olfatório primário e também outras regiões do cérebro envolvidas no processamento da informação sensorial olfativa (Lotsch *et al.*, 2012).

Através das fossas nasais, os odores atingem o epitélio olfativo, onde existem recetores para estas moléculas voláteis. Na membrana dos neurónios sensoriais olfativos, ocorre a deteção destas moléculas inaladas através do ar inspirado (Andrei e Comune, 2005). A interação entre as moléculas voláteis do óleo essencial e os recetores olfativos leva a ativação da proteína G específica na deteção de odores, designada de Golf, dando início à transdução (Ronnelt e Moon, 2002). Após esta ativação, a proteína Golf, ativa a adenilato ciclase aumentando assim os níveis de adenosina monofosfato cíclica (cAMP) a partir de moléculas de adenosina trifosfato (ATP) (Kang e Koo, 2012).

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

A cAMP ativa a proteína cinase A que fosforila os recetores. O aumento da cAMP provoca também a abertura dos canais iónicos, levando à despolarização dos neurónios através do influxo cálcio e sódio (Ennis *et al.*, 2007). Estas células iniciam o processo de transdução, transmitindo impulsos nervosos ao cérebro. Assim, no final deste processo, os impulsos nervosos percorrem os axónios até ao cérebro, mais concretamente até o sistema límbico, onde as mensagens são codificadas e onde se produzem respostas fisiológicas e psicológicas (Guyton, 1992, Ronnett e Moon, 2002).

1.3 Óleos essenciais

1.3.1 Plantas medicinais

Desde os tempos antigos, que as plantas medicinais foram reconhecidas como um importante recurso para a área da saúde (Kala, 2015, Cunha, 2003). Plantas como *Alliaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Myrtaceae*, *Poaceae* e *Rutaceae*, são as mais significativas no que diz respeito à produção de óleos essenciais com capacidades terapêuticas (Ali *et al.*, 2015).

1.3.2 Características gerais dos óleos essenciais

Os óleos essenciais são compostos voláteis, odoríferos, complexos, produzidos e armazenados em estruturas secretoras como os tricomas secretores, osmóferos, canais e bolsas (Raut e Karuppayil, 2015). São isolados somente por processos físicos a partir de uma planta inteira ou parte desta, como flores, folhas, rizomas e raízes (Cunha *et al.*, 2004). Normalmente, apresentam-se com cor amarelo pálido ou incolor, tem baixa solubilidade em água, mas são bastante solúveis em solventes orgânicos, e são facilmente oxidáveis pela luz, calor e ar (Djilani e Dicko, 2012).

Os óleos essenciais são especialmente usados em indústrias farmacêuticas, tanto como princípio ativo, como veículo de medicamentos, corretores de sabor e odor e aromatizantes, assim como na indústria alimentar e cosmética (Vigan, 2000). Neste caso e como exemplo, o acetato de gerânio pode ser usado em perfumes, cremes, sabonetes, mas também como aditivos para alimentos ou como solventes industriais (Bakkali *et al.*, 2008).

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

A nível terapêutico, podem ser usados em perturbações da pele e do couro cabeludo, como queimaduras, eczema, acne; podem também ser úteis em problemas musculares, articulares e circulares, como por exemplo, tensão arterial elevada; a nível respiratório podem ser benéficos em constipações; também podem auxiliar na digestão e no equilíbrio hormonal e ainda em problemas do sistema nervoso como ansiedade e depressão. Apresentam a capacidade peculiar de penetrar a barreira hematoencefálica, atuando a nível do sistema nervoso devido ao seu baixo peso molecular, juntamente com as suas características de solubilidade (Longe *et al.*, 2004).

A sua aplicação principal é a aromaterapia, na qual são utilizados principalmente nas massagens e por inalação. Podem ainda, ser administrados por via interna, principalmente por via oral e sublingual. Porém, a via interna não é a mais aconselhável, pois os óleos essenciais são muito agressivos para a mucosa gástrica. A título de exemplo, o óleo essencial de hortelã pimenta pode ser administrado por via oral através cápsulas apresentando ação anti inflamatória (Cunha *et al.*, 2012).

A normalização dos óleos essenciais consiste na criação de métodos de análise e especificações. No que diz respeito às indicações da qualidade, considera-se que são sustentadas em características químicas, físicas, organoléticas e no perfil cromatográfico, o que possibilita prevenir e detetar adulterações. Estas normas, também oferecem informações que contribuem para a estabilidade da qualidade e autenticidade dos óleos (Martins *et al.*, 2011).

1.3.3 Métodos de extração

São vários os métodos com capacidade de extrair óleos essenciais, sendo classificados como métodos convencionais ou clássicos e métodos avançados ou inovadores. A escolha do método varia consoante a parte da planta onde está presente o óleo e das características dele próprio (Hamid *et al.*, 2011).

Existem vários métodos convencionais, desde da prensagem a frio, enfloração, destilação em água por arrastamento a vapor, a destilação por arrastamento a vapor até à hidrodestilação. Com o avanço tecnológico, os processos de extracção tornaram-se mais rápidos, mais eficientes e com maior rendimento obtendo-se assim óleos essenciais de melhor qualidade (Asbahania *et al.*, 2015). Quanto aos métodos avançados existem uma vasta variedade, como a extracção com solvente, a extracção

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

com dióxido de carbono líquido e a extração com recurso a micro ondas (Asbahania *et al.*, 2015).

A prensagem a frio também chamada de expressão é o processo usado para o isolamento de óleos essenciais de citrinos que estão presentes em bolsas no pericarpo. Devido à instabilidade térmica dos aldeídos contidos nestes frutos, esta técnica baseia-se na prensagem das frutas onde se extrai o óleo juntamente com o sumo da fruta. Posteriormente são separados por centrifugação ou decantação, onde se libertam os óleos essenciais (Jurado *et al.*, 2014).

O método de enfloração também designado de *enfleurage* é utilizado para extrair óleos presentes em flores, em que as pétalas são expostas à temperatura ambiente sobre uma camada de gordura que absorve o óleo. A gordura é depois filtrada e destilada a baixas temperaturas obtendo-se o óleo pretendido (Abarca *et al.*, 2015).

No que diz à destilação podem ser empregues diferentes técnicas, como a hidrodestilação, destilação em água com arrastamento a vapor e destilação por arrastamento a vapor, em que nas duas primeiras técnicas as plantas aromáticas são imersas em água a ferver e na destilação por arrastamento a vapor a planta apenas é exposta à ação do vapor de água. A destilação por arrastamento a vapor é a que apresenta rendimentos mais elevados e menos susceptibilidade à hidrólise (Jurado *et al.*, 2014). A hidrodestilação e a destilação em água com arrastamento a vapor consiste em mergulhar a planta em água; através do calor gerado as paredes das células são quebradas, e o óleo essencial juntamente com a água é evaporado. Após o arrefecimento a mistura é separada pelas diferentes densidades (Simões *et al.*, 2000). A destilação com arrastamento a vapor baseia-se na acção do vapor de água que arrasta consigo os compostos voláteis, havendo depois uma condensação por acção da gravidade, que separa o óleo essencial da água, do mesmo modo que as técnicas anteriormente referidas; a principal vantagem desta técnica é a ausência de contacto directo com a água (Msadda *et al.*, 2012).

A extração com solvente baseia-se no uso de um solvente orgânico, como o éter de petróleo, onde se extrai não só o óleo essencial mas também os compostos lipófilos como a resina (Simões *et al.*, 2000).

A extração com dióxido de carbono líquido é usado para óleos essenciais com características mais sensíveis. Esta extração é feita com dióxido de carbono

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

líquido, através desta técnica há garantia que os compostos se mantêm activos (Simões *et al.*, 2000). Baseia-se em colocar o dióxido de carbono (CO₂) em condições de pressão e temperatura críticas, adquirindo propriedades de um estado intermédio entre líquido e gás que será usado para extrair a matriz da planta (Msadda *et al.*, 2012).

Na extracção com recurso a micro ondas coloca-se a planta num micro ondas e o calor por ele gerado vai fazer com que as estruturas que contêm o óleo essencial se rompam, de modo a evaporar e condensar o óleo através de um sistema de arrefecimento (Vian *et al.*, 2008).

1.3.4 Constituintes dos óleos essenciais

Os óleos essenciais são misturas muito complexas que podem conter centenas de componentes em diferentes concentrações, mas são caracterizados pelos constituintes que se encontram em concentrações maioritárias (Bakkali *et al.*, 2008). A grande maioria dos óleos essenciais é constituída por derivados de terpenóides ou de fenilpropanóides, sendo que os primeiros predominam (Başer e Demirci, 2007). Porém, há vários factores que podem ser responsáveis pela variabilidade química, sendo eles as variações genéticas, a nutrição da própria planta, a adição de fertilizantes, a localização geográfica, o clima, as variações sazonais, o modo de secagem e de armazenamento, o tipo de extracção, o uso de diferentes solventes na extracção e a parte da planta em causa (Raut e Karuppayil, 2015).

A análise dos óleos essenciais pode ter dois objectivos, sendo eles, a identificação e a quantificação dos componentes e a avaliação da qualidade dos óleos (Hamid *et al.*, 2011). A sua composição pode ser determinada por cromatografia em fase gasosa e por espectrometria de massa (Vigan, 2000).

O grupo dos terpenos é o mais frequente nos óleos essenciais, formados em regra por duas ou mais moléculas de isopreno, apresentando a fórmula geral (C₅H₈)_n.

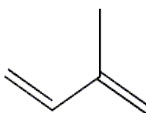


Figura 1- Molécula de isopreno (Adaptado de Hamid *et al.*, 2011).

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Podem ser classificados consoante o número de carbonos, em que os principais são os monoterpenos formados por 10 átomos de carbono e os sesquiterpenos com 15 átomos de carbono (Başer e Demirci, 2007). Estes são responsáveis pelo odor do óleo essencial e pelas suas características farmacológicas (Cunha *et al.*, 2003). Os monoterpenos formados a partir de duas unidades de isopreno, podem ser acíclicos ou lineares, como β -mirceno ou cíclicos, tal como p-mentano (Başer and Demirci, 2007). Os sesquiterpenos são constituídos por três moléculas de isopreno e podem ser lineares, ramificados ou cíclicos (Başer e Demirci, 2007).

Os terpenos podem sofrer modificações estruturais, nomeadamente, adição de grupos como os alcoois, cetonas, aldeídos, ésteres, éteres, peróxidos e fenóis e cetonas (Başer e Demirci, 2007). Os óleos que tem maior percentagem de alcoois e ésteres são mais seguros, mas os que apresentam actividade terapêutica mais baixa. Os óleos com altas concentrações de cetonas, fenóis e aldeídos apresentam maior capacidade terapêutica, porém apresentam mais efeitos adversos e por isso são menos utilizados ou então usados em baixas concentrações (Peres e Comune, 2005).

1.3.5. Biossíntese dos terpenos

Sabe-se que os precursores dos terpenos são pirofosfato de isopentenila (IPP) e o seu isómero, o pirofosfato de dimetilalila (DMAPP). Estes dois precursores provêm de diferentes vias biossintéticas, nomeadamente a via do mevalonato conhecida já a algum tempo e a via não-mevalonato descoberta recentemente (Nagegowda, 2010).

A via mevalonato resulta da condensação de três moléculas de acetil-coenzima A, formando 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A sendo depois convertido no mevalonato. Este por sua vez forma o isopentenil difosfato que se condensa com o dimetilalil difosfato através da enzima prenil-transferase originando geranyl difosfato, precursor dos monoterpenos. Quando se adiciona uma nova molécula de IPP ao geranyl difosfato forma-se farnesil difosfato, que é o precursor dos sesquiterpenos. Por sua vez quando se adiciona uma terceira molécula de IPP ao composto anterior forma-se geranylgeranyl difosfato, molécula precursora dos diterpenóides e assim sucessivamente (Hallahan, 2000, Tholl, 2006).

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Relativamente à via não-mevalonato, a formação do IPP e DMAPP deve-se à descarboxilação do 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXP) proveniente de dois produtos da glicólise, o D-gliceraldeído-3-fosfato e o piruvato, porém o seu mecanismo não está completamente esclarecido (Buchanan, *et al.* 2000).

Quanto aos derivados dos terpenos são formados a partir de reações como rearranjo, oxidação, redução e hidratação (Başer e Demirci, 2007).

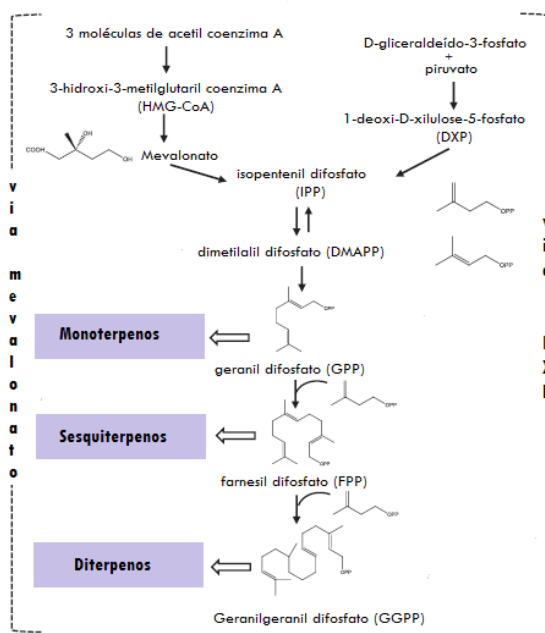


Figura 2- Biossíntese dos terpenos (Adaptado de Nagegowda, 2010).

1.3.6 Propriedades farmacológicas

As plantas medicinais ou os seus extractos apresentam inúmeras potencialidades, o que lhes permite prevenir e tratar diferentes patologias, como doenças inflamatórias, cardiovasculares, diabetes, alergias, artrite, entre outras (Juhás *et al.*, 2008).

Os constituintes responsáveis pelas actividades terapêuticas são normalmente os que se apresentam em maiores concentrações, além disso podem também actuar sinergicamente atuando no organismo pela interacção com os mecanismos fisiológicos (Bakkali *et al.*, 2008).

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Apresentam as mais variadíssimas acções farmacológicas, principalmente efeito antibacteriano, antifúngico, antiviral, antimutagénico, anti-oxidante, anti-inflamatório, para além destas apresentam também propriedades analgésicas, antidiabéticas, antiprotozoárias, anti tumorais, anticasca, ação espasmódica, ações hormonais, entre outras (Ali *et al.*, 2015, Raut e Karuppayil, 2015).

Com o aumento das resistências das bactérias aos antibióticos torna-se importante encontrar complementos a estes. Estudou-se então as propriedades antibacterianas de vários óleos essenciais em que os resultados foram tão promissores que se considera uma hipótese ao combate de bactérias, nomeadamente o óleo essencial de alho mostrou-se eficaz a combater o *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) (Ali *et al.*, 2015). Como se tratam de compostos lipófilos são capazes de atravessar a membrana celular causando a desestabilização desta. O terpinen-4-ol, que é o principal constituinte da *Melaleuca alternifolia* causa a lise celular e a perda de integridade da membrana devido à saída de iões e inibição da respiração celular (Andrade, *et al.*, 2013, Raut e Karuppayil, 2015).

Os óleos essenciais demonstram também capacidade de inibir o crescimento de alguns fungos, sendo que esta inibição varia com os organismos alvo e o óleo testado. É o caso do óleo de *Melaleuca leucadendron* que apresenta actividade antifúngica contra *Aspergillus niger*. Esta capacidade antifúngica deve-se à capacidade de inibir o ciclo celular, de afectar as concentrações de cálcio e hidrogénio e de levar à perda da permeabilidade da membrana (Saad,*et al.*, 2013, Raut e Karuppayil, 2015).

Quanto à atividade antiviral, verificou-se que os óleos essenciais apresentaram eficácia no combate a um vasto número de vírus. O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* é eficaz no tratamento de infeções por vírus do herpes, isto porque interfere com as estruturas do envelope viral, impedindo que o vírus entre nas células hospedeiras. Por exemplo, o óleo de orégãos tem capacidade de dissolver o envelope do HSV atenuando a sua capacidade infecciosa (Ali *et al.*, 2015, Raut e Karuppayil, 2015).

As propriedades antimutagénicas dos óleos essenciais devem-se a vários mecanismos de acção, como impedimento da entrada dos agentes mutagénicos, captura dos radicais produzidos pelos agentes mutagénicos e activação de enzimas antioxidantes celulares, que assim promovem a reparação do ácido desoxirribonucleico (DNA)

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

(Bhalla *et al.*, 2013). As mutações induzidas pela *E. coli* foram inibidas pela *Melaleuca alternifolia*, demonstrando assim propriedades antimutagénicas (Evandri *et al.*, 2005).

Os radicais livres e as espécies reactivas causam danos celulares, levando a variados problemas de saúde como cancro, Alzheimer e Parkinson (Raut e Karuppayil, 2015). Os flavonóides, terpenóides e componentes fenólicos presentes nos óleos essenciais apresentam propriedades antioxidantes significativas, mas relativamente aos mecanismos de acção não são totalmente conhecidos (Tafurt *et al.*, 2005, Raut e Karuppayil, 2015). O óleo essencial de *Nigella sativa L.* é um potente antioxidante, eliminando os radicais de hidroxilo (Ali *et al.*, 2015).

Quando o organismo sofre lesões este tem capacidade de reparação através do mecanismo de inflamação, porém quando o agente inflamatório persiste pode levar a perda de função do órgão e levar até a doenças degenerativas (Alvarado *et al.*, 2014). Alguns óleos essenciais como o de *Ocimum sanctu* tem propriedades anti inflamatórias através de mecanismos de acção como inibição de lipoxigenase, da enzima COX-2, das citocinas pró-inflamatórias, interleucina-1 β e factor de necrose tumoral- α e também a repressão de genes pró-inflamatórias (Miguel, 2010).

1.3.7 Segurança

Ao longo dos anos tem persistido o mito de que a fitoterapia é 100% segura, porém, são várias as reacções adversas associadas ao seu uso (Ali *et al.*, 2015). As formulações medicamentosas contendo estes compostos, de acordo com os critérios de segurança não podem exceder os 5% de óleos essenciais, visto que com esta pequena percentagem é pouco provável o aparecimento de efeitos indesejáveis (Cavaleiro, 2007).

Os óleos essenciais são constituídos por substâncias molecularmente ativas que podem prejudicar a célula, principalmente a membrana citoplasmática, levando à perda de funções fundamentais (Ali *et al.*, 2015). As reacções indesejadas podem dever-se a efeitos secundários, sobredosagens e reacções alérgicas limitando o uso do óleo essencial (Shawaet *al.*, 2012). Há problemas de toxicidade provenientes da qualidade, seja uso de plantas erradas ou mal identificadas, métodos de processamento incorretos, fornecimento produtos adulterados ou contaminados (Shaw, 2010).

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Relativamente aos efeitos adversos poderá ocorrer irritação ocular, das mucosas e da pele particularmente nos óleos que contêm aldeídos e fenóis. Pode ocorrer também sensibilização de contacto quando os óleos são constituídos por monoterpenos. Para além destes efeitos há também a possibilidade de sensibilização cruzada tanto com outros óleos essenciais como com alimentos (Ali *et al.*, 2015). É também de destacar o facto de alguns óleos essenciais como laranja e limão aumentarem a sensibilidade à luz solar favorecendo queimaduras solares (Longe *et al.*, 2004). Geralmente o álcool, os aldeídos e os componentes fenólicos são responsáveis pela citotoxicidade do óleo essencial (Raut e Karuppayil, 2015).

As interações entre medicamento e as plantas tem gerado algumas preocupações, principalmente no que diz respeito a medicamentos com margem terapêutica estreita, como a varfarina (Shi e Klotz, 2012). Existe maior probabilidade de ocorrer quando os fármacos são metabolizados pelas enzimas do citocromo P450 ou em que a biodisponibilidade é afetada pela glicoproteína P (Shawa *et al.*, 2012). Mas maioria das interações são difíceis de prever, pois dependem de vários fatores, como os medicamentos co-administrados, as características do paciente, a origem e a composição dos medicamentos base de plantas e os regimes de dosagem aplicáveis (Shi e Klotz, 2012).

No que diz respeito à inalação de óleos essenciais, para além de não ser recomendada a doentes asmáticos, é necessário ter especial atenção, pois atingem o sistema nervoso o que poderá levar a cefaleias ou indisposições gastrintestinais quando usados em excesso (Peres e Comune, 2005).

Como o uso de plantas medicinais é considerada, erradamente, como segura é usada pelas grávidas para tratar algumas doenças. O óleo essencial pode atravessar a barreira placentária podendo afetar o desenvolvimento embrionário e fetal provocando inclusive abortos (Joa *et al.*, 2015). O óleo de semente de endro (*Anethum graveolens*), óleo de Savin (*Juniperus sabina*) e óleo de absinto (*Artemisia absinthium*) são considerados tóxicos durante a gravidez, devido às suas propriedades abortivas (Raut e Karuppayil, 2015). Outros efeitos adversos que os óleos poderão causar são complicações diabéticas, parto prematuro e morbidade no desenvolvimento neurológico (Joa *et al.*, 2015).

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Em crianças o uso de óleos é mais usado para tratamento de tosses e constipações (Du *et al.*, 2014). Merecem também especial atenção, pois são muito mais suscetíveis em relação a um indivíduo adulto, sendo então aconselhável diluir com um óleo base previamente (Longe *et al.*, 2004).

A toxicidade pode ser diferente dependendo de vários fatores, como por exemplo, a via de administração e as características do indivíduo, como o seu estado de saúde, idade e peso (Vian *et al.*, 2008). É necessário por isso avaliar as características de cada pessoa separadamente de modo a que os efeitos indesejáveis sejam os menos possíveis (Shawa *et al.*, 2012).

1.4 Zimbro

O género *Juniperus*, pertencente à família das *Cupressaceae*, é uma gimnospérmica que possui cerca de setenta espécies e vinte e oito variedades distribuídas por todo mundo. Do mesmo modo que outros elementos das *Cupressaceae*, as espécies de *Juniperus*, são árvores ou arbustos que possuem órgãos, como canais e bolsas, capazes de produzir e acumular secreções resinosas de importante valor comercial (Cavaleiro, 2001, Cunha *et al.*, 2003).

É usado como matéria prima na indústria farmacêutica, química, alimentar e cosmética. Em Portugal, existem seis subespécies distintas, nomeadamente *J. communis* L. *subsp. alpin*, *J. oxycedrus* L. *subsp. oxycedrus*, *J. navicularis* Gandoger, *J. turbinata* Guss., *J. cedrus* Webb e Berth e *J. brevifolia* (Cavaleiro, 2001, Figueiredo *et al.*, 2007).

O *Juniperus communis*, vulgarmente chamado de zimbro ou junípero, assume a forma de um arbusto de crescimento lento, apresentando uma altura entre um a três metros, porém pode atingir a altura de oito metros (Cavaleiro, 2001).

Tem folhas pontiagudas, curtas e perenes em forma de agulha com tamanho entre dez a quinze milímetros. Os seus frutos (bagas) são esféricos, pruinosos, de tamanho entre seis a nove milímetros, que se caracterizam como gábulos baciformes de maturação bienal ou trienal. Quando nascem são verdes, mas amadurecem em aproximadamente dezoito meses adquirindo cor púrpura a preta. Quando maduros,

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

apresentam vastas propriedades farmacológicas, além de serem muito utilizadas em outras áreas (Bais et al., 2014, Cunha *et al.*, 2003).



Figura 3- Bagas de zimbro (Adaptado de Bais *et al.*, 2014)

O zimbro é capaz de sobreviver a condições adversas, pois trata-se de planta resistente que tolera ventos fortes, solos fracos e altas altitudes como colinas e terrenos montanhosos. Cresce em montanhas na Europa, na Ásia Ocidental e na Setentrional e América do Norte (Larkeche *et al.*, 2015). Em Portugal é característico das zonas montanhosas acima dos mil metros de altitude, como a Serra da Estrela e o Gerês. Apesar de crescer esporadicamente e espontaneamente, pode ser também cultivado em clima temperado ou frio, através das sementes presentes nas bagas (Cunha *et al.*, 2003).

Apresenta vários componentes químicos, consoante a parte da planta. Mais frequentemente são empregues os gálbulos também designados de bagas, a casca do tronco e o óleo essencial. Assim, os constituintes do zimbro abrangem o próprio óleo essencial, flavonóides, constituinte amargo, nomeadamente a juniperina, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, taninos hidrolisáveis, cumarinas, açúcares como a glucose e frutose, procianidinas oligoméricas, linhanos, leuco-antocianinas, fenóis, ésteres, ácidos orgânicos e resinas (Bais *et al.*, 2014, European medicines agency, 2009, Cunha *et al.*, 2003).

O óleo essencial de *Juniperus communis* é o mais valorizado quando comparado com outros óleos de diversas espécies de *Juniperus*, designadamente a nível da indústria farmacêutica, alimentar, de perfumaria e de bebidas. As bagas do zimbro são conhecidas especialmente devido as suas propriedades aromatizantes, sendo usada, inclusive em bebidas alcoólicas como o gin, genebra e a aguardente de zimbro. É também, comumente usada como condimento, devido ao seu sabor característico e ao seu aroma, sendo muito comum na gastronomia da Escandinávia, do centro da Europa e

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

do sul da Alemanha. Relativamente à área da saúde é empregue maioritariamente na aromaterapia devido ao seu baixo custo e facilidade de acesso (Bais *et al.*, 2014, Figueiredo, *et al* 2014).

No que diz respeito às suas potencialidades medicinais, o zimbro é usado tradicionalmente como agente diurético, sendo também utilizado, na artrite reumatoide e como agente antifúngico (Banerjee *et al.*, 2012). As partes do zimbro que apresentam propriedades farmacológicas são as bagas, as partes aéreas e as cascas do tronco (Cunha *et al.*, 2003). Assim as bagas apresentam propriedades antissépticas, diuréticas, sudoríficas, digestivas, adstringente e anti-inflamatórias, e no uso externo são utilizados no tratamento da artrite. Já as partes aéreas podem ser usadas em cistites, albuminúria, supressão renal e leucorreia. Por fim, a casca da árvore mostra propriedades capazes de auxiliar no tratamento da asma, gonorreia, artrite, problemas respiratórios, diabetes, afeções da bexiga e da pele, tosse, entre outros (Bais *et al.*, 2014, Anjos *et al.*, 2013). Contudo, a Comissão E apenas aprova o uso das bagas na dispepsia e perda de apetite (Cunha *et al.*, 2003).

1.4.1 Óleo essencial de zimbro

A maior parte dos órgãos do zimbro contem óleo essencial, sendo este extraído principalmente das suas bagas e das suas folhas. O óleo trata-se de um líquido incolor ou de cor amarela pálida com um aroma pungente (Orav *et al.*, 2010). A percentagem de óleo presente depende de vários fatores, como a localização geográfica, a idade, as condições meteorológicas, o grau de maturação. Especificamente as bagas verdes contém maior quantidade de α -pineno, do que os óleos das folhas e frutos maduros obtidos a partir da mesma planta (Orav *et al.*, 2010).

O óleo de zimbro é um produto natural, usado na indústria farmacêutica e alimentar, para a produção de bebidas alcoólicas e perfumaria, assim como em cosmética (Orav *et al*, 2010). Em Portugal é usado em aromatizante de bebidas alcoólicas através da maceração das bagas do zimbro (Anjos *et al*, 2013).

O óleo de zimbro normalmente está presente em concentrações relativamente baixas, por isso é necessário técnicas de extração de alto desempenho para obter rendimentos consideráveis, sendo essas técnicas a hidrodestilação, a extração do dióxido de carbono supercrítico e a extração de solvente. A hidrodestilação apresenta

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

capacidades de extrair o óleo de alta qualidade de forma simples e segura em relação a outras técnicas de extração (Figueiredo, 2014, Milojevic, S. *et al* 2008).

1.4.1.1 Constituintes

Pela natureza complexa das plantas e dos óleos essenciais torna-se difícil identificar todos os constituintes por cromatografia em fase gasosa ou espectrometria de massa separadamente, por isso para identificar os componentes do óleo essencial de zimbro é usado cromatografia gasosa juntamente com espectrometria de massa (Robbat *et al.*, 2011).

O óleo essencial de zimbro é em grande parte composto por hidrocarbonetos de monoterpenos, como sabineno, α -pineno, β -pineno, mirceno e limoneno (Bais *et al.*, 2014, Kumar *et al.*, 2007). Para além destes é constituído por outros monoterpenos como linalol, citronellol, canfeno, terpineol, borneol, geraniol e alguns sesquiterpenos, nomeadamente β -elemeno, cariofileno, cadinenos (Cunha *et al.*, 2003). Contudo a composição do óleo de zimbro depende do crescimento, da idade da planta, da forma do arbusto e do amadurecimento dos frutos (Angioni *et al.*, 2003).

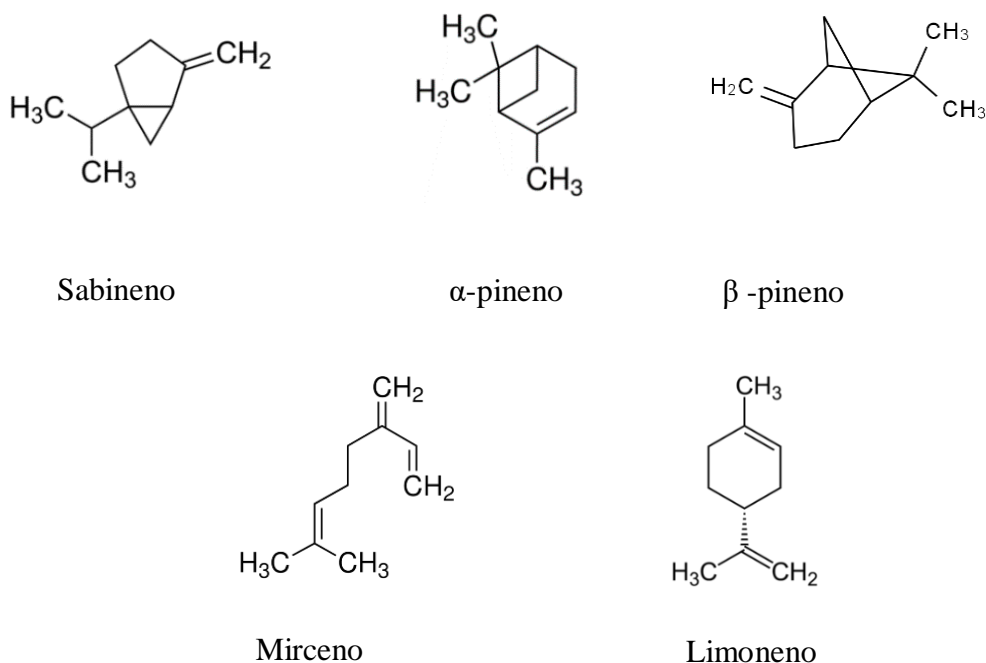


Figura 4- Estruturas químicas dos componentes principais do óleo essencial de zimbro (Adaptado de Bais *et al.*, 2014).

1.4.1.2 Propriedades farmacológicas

Embora o óleo essencial de zimbro possa ser obtido a partir das folhas e do caule desta conífera, é das bagas que se retira o óleo de maior valor terapêutico, estando os efeitos terapêuticos dos óleos essenciais relacionados diretamente com os compostos predominantes (Cunha *et al.*, 2003).

Desde de tempos antigos que as plantas são usadas como fonte para tratamento de variadas doenças (Bais *et al.*, 2014). No que respeita às suas potencialidades medicinais, o óleo de zimbro foi conhecido, durante séculos, pelas suas propriedades diuréticas e gastrointestinais. Atualmente já são conhecidas outras propriedades farmacológicas, sendo útil no tratamento de doenças inflamatórias e infecciosas (Orav *et al.*, 2010, Akkol *et al.*, 2009). Apresenta também outras ações farmacológicas importantes, como atividade analgésica, antifúngica, antidiabética, antioxidante, e ainda actividade anti-hipercolesterolémico e neuroprotetora (Bais *et al.*, 2014). A agência europeia do medicamento aprova o uso do óleo essencial de zimbro para o alívio das dores musculares e articulares (European medicines agency , 2009).

1.4.1.2.1 Potencial anti-inflamatório

A inflamação é um processo orgânico que ocorre quando um agente estranho é localizado, neutralizado e eliminado do organismo (Arosa *et al.*, 2012). Trata-se de uma resposta protetora que se baseia em mecanismos que reparam o local lesado, através de células do hospedeiro, vasos sanguíneos, proteínas e mediadores. As doenças auto imunes ou alguns fármacos podem suprimir esta resposta inflamatória levando a consequências muito graves ou até fatais (Rang e Dale, 2004).

Mundialmente têm sido usadas várias espécies de *Juniperus* para situações inflamatórias de várias origens, tais como bronquite, gripes e infeções fúngicas. No entanto, foram realizadas poucas investigações para avaliar o seu poder anti-inflamatórias, sendo por isso necessário mais estudos para definir e isolar os componentes responsáveis por esta atividade, de modo a garantir segurança e eficácia no tratamento de diversas doenças inflamatórias (Akkol *et al.*, 2009).

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

De modo a avaliar o poder anti-inflamatório, realizou-se um estudo com base no potencial inibitório de algumas espécies de *Juniperus* em relação à biossíntese de tromboxano B₂(TXB₂), prostaglandina E₂ (PGE₂) e ácido hidroieicosatetraenóico 12 (12-HETE). Tanto o TXB₂, o PGE₂ e o 12-HETE são metabolitos derivados do metabolismo do ácido araquidónico, que é catalisado pela enzima ciclooxigenase 1 (COX-1) e pela enzima lipoxigenase 12 (LOX-12). Os resultados obtidos neste estudo, demonstraram que produção de PGE₂ aumentou significativamente, o que potencia a resposta inflamatória (Marija et al., 2014).

No referido estudo, distinguiu-se também o poder anti-inflamatório do extrato e do óleo essencial existente nas bagas. Observou então um potencial anti-inflamatório superior no óleo essencial em relação ao extrato, devido provavelmente a uma maior concentração de terpenos que inibem a síntese dos metabolitos analisados (Marija et al., 2014).

Contudo, a inflamação não envolve apenas as enzimas COX-1 e LOX-12, assim é necessário investigar outras vias inflamatórias, a fim de determinar se as espécies examinadas possuem atividade anti-inflamatória em outras etapas da cascata do ácido araquidónico (Akkol et al., 2009).

1.4.1.1.2 Potencial Analgésico

A dor é caracterizada como um fenómeno complexo, nociceptivo, desagradável, sensorial e também emocional. Acompanha a maior parte das situações patológicas que necessitam de cuidados médicos, funcionando assim como sinal de alerta (Serviço Nacional de Saúde, 2005). É definida pela International Association for the Study of Pain (IASP) como "uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada com lesão tecidual real ou potencial, ou descrita em termos dessa lesão" (IASP, 2012). É a causa mais frequente pela qual a população portuguesa recorre aos serviços médicos, afetando a sua qualidade de vida (Direção Geral de Saúde, 2001).

Pode classificada de acordo com vários parâmetros, nomeadamente quanto à sua duração ou quanto à sua fisiopatologia. Em relação à duração, pode ser classificada como dor rápida, também chamada de dor aguda ou dor lenta designada também de dor crónica. A dor aguda aparece repentinamente e tem curta duração. Funciona como sinal

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

de alerta, não sendo sentida na maior parte dos tecidos corporais profundos. A dor crónica é prolongada, podendo durar de semanas a meses. Pode acompanhar uma doença crónica, prolongar uma dor aguda ou surgir num contexto isolado, sem que seja possível identificar qualquer processo patológico (Merck Sharp e Dohme, 2016, Guyton, 1992). Relativamente à transmissão dos sinais dolorosos, os sinais de dor rápida são transmitidos nos nervos periféricos em direção à medula espinhal por fibras tipo mielínicas A δ , enquanto que os sinais da dor lenta são transmitidos por fibras tipo amielínicas C, capazes de propagar o impulso nervoso de maneira mais lenta (Klaumann *et al.*, 2008).

Quanto à fisiopatologia, podemos considerar a dor como nociceptiva ou neuropática. A dor nociceptiva, como por exemplo a dor da inflamação articular, pode ser de origem somática ou visceral, surgindo quando há ativação dos recetores sensoriais periféricos a estímulos mecânicos, térmicos e químicos (Malanga e Paster, 2007). A dor do tipo somática provém dos músculos, ossos, pele e articulações. Já a dor nociceptiva visceral atinge órgãos mais internos (Klaumann *et al.*, 2008). A dor neuropática pode ser proveniente de uma lesão ou disfunção do sistema nervoso periférico ou central, sendo exemplo a neuropatia diabética, nevralgias pós-herpéticas ou o síndrome do membro-fantasma (Malanga e Paster, 2007).

A dor articular, denominada também de artralgia está entre os tipos de dor mais frequentes. A dor articular associada à osteoartrite, dor após a lesão traumática e cirurgias, dor relacionada com doenças articulares inflamatórias tais como artrite reumatoide e dor relacionado com deposição de cristais nas articulações, como a gota afeta a qualidade de vida tendo efeitos debilitantes nos pacientes que variam desde uma simples restrição dos movimentos até sua completa incapacidade (APED, 2010). Como ocorre desgaste e destruição progressiva da cartilagem, os movimentos ficam comprometidos, pelo que ocorre instabilidade da articulação, levando a sensação de dor. Em todo o mundo, a prevalência de dor nas articulações é extensa, em que o problema pode exigir custos socioeconómicos elevados para as sociedades (IASP, 2016). A artralgia pode ser aguda ou crónica, podendo sentida em apenas uma articulação ou em diversas articulações. Tem como resultado deterioração física, claudicação, restrição de

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

movimento e perda de força. A dor articular pode aumentar com o uso e melhorar com o repouso, mas pode também ser constante (APED, 2010).

Existem vários mecanismos pelos quais a dor surge, como estimulação dos nociceptores, ativação de neurónios aferentes primários específicos e lesão ou disfunção dos nociceptores. Quando há um estímulo nociceptivo, ocorre a transdução, onde há conversão de energia do estímulo em atividade eletrofisiológica. A transdução é modulada por uma série de substâncias químicas que são produzidas ou libertadas quando existe lesão celular, que influenciam o grau de atividade nervosa e, por conseguinte, a intensidade da sensação de dor. Sucede também alteração na membrana à permeabilidade de iões surgindo uma onda de despolarização e repolarização, desde a periferia até ao sistema nervoso central. De seguida, a informação codificada é transmitida através da via medula espinhal para o tronco encefálico e tálamo, sendo por fim dada a resposta de integração à dor (APED, 2003).

Os nociceptores, isto é os recetores da dor, são terminações nervosas livres que respondem a estímulos, mecânicos, térmicos ou químicos, como acetilcolina, bradicinina, histamina, leucotrieno, substância P, fator de ativação plaquetário, prostaglandinas, tromboxano, interleucinas e fator de necrose tumoral. Encontram-se por todo o corpo, nomeadamente na pele, nos músculos, nas vísceras e também no tecido conjuntivo (Guyton, 1992). O seu percurso varia consoante a parte do corpo afetada (Merck Sharp e Dohme, 2016).

O tratamento da dor pode ser dividido em farmacológico e não farmacológico (Direção Geral da Saúde, 2001). O tratamento farmacológico continua a ser o método de eleição. Existe ainda uma vasta oferta de medicamentos disponíveis para o tratamento da dor, como analgésicos, opióides, relaxantes musculares, anestésicos e anti-inflamatórios. Considerando as várias intensidades da dor o tratamento farmacológico pode ser diferente. Para dores fracas a moderadas recomenda-se o uso de fármacos não-opióides, ou seja analgésicos e anti-inflamatórios, como o paracetamol e o ibuprofeno. Para dores fortes é preferível opióides fortes, como morfina, metadona e oxicodona, associados ou não aos fármacos não-opióides. Sempre que necessário, é possível associar adjuvantes antidepressivos, anticonvulsivantes, neurolépticos, bifosfonados, corticosteróides a todos os tipos de dor. Adicionalmente, ao controlo da dor pode ser

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

apoiado por abordagens não farmacológicas como estimulação nervosa eléctrica transcutânea, acupuntura, hipnose ultra sons, apuncuntura, fitoterapia, entre outros (Merck Sharp e Dohme, 2016).

Ao longo dos tempos, o Homem tem usado diversas formas de terapia para o alívio da dor, entre eles, as plantas (Almeida *et al.*, 2001). Estudos revelam que o zimbro produz uma inibição significativa no que diz respeito à resposta da dor, apesar do efeito ser menor ao da aspirina e outros anti-inflamatórios não esteróides. Pensa-se que o mecanismo pelo qual atua o óleo essencial de zimbro deve-se ao bloqueio da libertação de prostaglandinas (Benerjee *et al.*, 2012). Sendo o α -pineno um dos constituintes principais pode ser o responsável por algum efeito analgésico, devido aos estímulos nociceptivos e à COX-2. O mirceno que também existe em percentagens consideráveis no óleo essencial de zimbro apresenta efeito analgésico periférico e central afetando as prostaglandinas E2 (Vale *et al.*, 2003).

1.4.1.2 Efeitos adversos do óleo essencial de zimbro

Os óleos essenciais são geralmente seguros com efeitos adversos mínimos (Ali *et al.*, 2015). Como já foi referido, o grau de toxicidade dos óleos essenciais varia com a via de administração, assim a via oral pode causar mais complicações do que a via tópica (Cunha *et al.*, 2003). As preparações de zimbro não devem ser usadas por um período superior de três semanas, porém se se pretender maior duração da terapêutica deverá procurar-se aconselhamento médico (European medicines agency , 2009).

Em baixas concentrações, o óleo do zimbro é tolerado sem quaisquer efeitos prejudiciais, não se obtendo efeitos tóxicos (Craig *et al.*, 2004). Quando o seu uso é prolongado ou em sobredosagem o óleo é nefrotóxico, assim doses elevadas podem irritar os rins e o trato urinário, logo pessoas com problemas renais devem evitar o seu uso (Cunha *et al.*, 2003). Não é também aconselhável o seu uso em grávidas, pois pode estimular as contrações do útero. Quanto aos doentes diabéticos é desaconselhável, porque pode aumentar os níveis de açúcar no sangue. No que se refere ao uso externo pode conduzir a reações de hipersensibilidade. É necessário ter precaução com o seu uso

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

associado a medicamentos diuréticos, pois pode levar excreção excessiva de líquido (Cunha *et al.*, 2003, Ody, 2000).

1.5 Objetivos e hipóteses de estudo

1.5.1 Objetivo geral

O objetivo geral definido para a parte prática deste estudo foi a avaliação do poder analgésico do óleo essencial de zimbro em patologias articulares dos membros superiores e inferiores.

1.5.2 Objetivos específicos

Com este estudo pretende-se obter informações que possam responder aos seguintes objetivos específicos:

1 – Caracterizar os utentes do HE-UFP que participaram neste estudo no que diz respeito a sexo e idade;

2– Determinar qual a medicação tomada pelos participantes e a existência de patologias respiratórias com influência no sistema olfativo;

3 – Caracterizar o tipo de dor;

4 – Determinar e comparar os níveis de intensidade de dor, antes e após a inalação do óleo essencial de zimbro e do placebo.

1.5.3. Hipóteses de estudo

De modo a prever os resultados da pesquisa, com base nos objetivos do estudo surge a hipótese de estudo. Assim, definiram-se as seguintes hipóteses nulas para este estudo:

H1 – Não houve alterações na intensidade de dor antes e após a inalação do óleo essencial de zimbro;

H2- Não houve alterações na intensidade de dor antes e após a inalação do placebo (óleo de sésamo).

Capítulo II- Metodologia

2.1. Descrição do estudo

O presente estudo corresponde a um estudo quantitativo, descritivo exploratório e transversal, de modo a avaliar o efeito analgésico do óleo essencial de zimbro.

2.2. Caracterização da amostra

A população-alvo que suporta este estudo é constituída por 50 utentes de ambos os sexos da Unidade de Medicina Física e de Reabilitação do HE-UFP, mais concretamente pacientes das consultas de fisioterapia com problemas articulares dos membros superiores ou inferiores.

2.2.1 Critérios de inclusão

De forma a ter uma rigorosa e coerente recolha de dados, incluíram-se no estudo indivíduos com disponibilidade, com dores articulares nos membros superiores e/ou inferiores e com idade igual ou superior a 18 anos.

2.2.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo doentes oncológicos, mulheres grávidas e lactantes, pacientes se encontrassem a tomar medicamentos com interação com o sistema olfativo, como as quinolonas, e doentes que apresentassem patologias do trato respiratório superior.

2.3. Princípios éticos

Para a realização desta investigação, os participantes foram devidamente informados e esclarecidos dos propósitos do estudo e dos possíveis riscos, sendo assegurada a confidencialidade dos respetivos dados. Todos os que participaram, assinaram uma declaração de consentimento informado, elaborada de acordo com as normas instituídas pela Comissão de Ética do HE-UFP.

Foram também esclarecidos sobre a natureza e objetivos do estudo, da condição voluntária da sua participação e da possibilidade de abandonar o estudo a qualquer momento se assim fosse o seu desejo.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Os dados recolhidos foram tratados de forma anónima, assim são unicamente caracterizados no que respeita ao seu sexo e idade.

Este projeto foi submetido e aprovado pela Comissão Ética do HE-UFP (Anexo 1). Para a realização da colheita de dados, foi solicitada a autorização junto da Direção Clínica do HE-UFP e dos responsáveis pela Unidade de Medicina Física e de Reabilitação.

2.4. Variáveis dependentes e independentes

As variáveis podem ser analisadas em dois grupos distintos, variáveis independentes e variáveis dependentes. Considera-se as variáveis independentes do estudo o género, a idade, existência de patologias no trato respiratório superior e medicação tomada, caracterizando os utentes na investigação realizada. As variáveis dependentes correspondem ao tipo de dor e o nível de dor pré e pós inalação.

2.5. Instrumentos de recolha de dados

Para obtenção dos dados foi elaborado um questionário com um registo anónimo e confidencial. Este tipo de recolha de dados foi escolhido dada a facilidade de aplicação ao público a que se destinou.

O instrumento de investigação utilizado foi um questionário estruturado com 7 perguntas abertas e fechadas, com o objetivo de caracterizar a amostra e obter informação sobre a dor antes e depois da inalação do óleo essencial e do placebo. Para a caracterização da amostra, o questionário incluía questões sobre a idade, o género, a medicação do participante, bem como a existência de patologias do trato respiratório superior (Anexo 2).

2.6. Procedimento

O teste aplicado aos participantes em estudo decorreu em contexto terapêutico, durante o mês de abril do ano 2016 no HE-UFP, na Unidade de Medicina Física e de Reabilitação. Os intervenientes do estudo foram informados sobre o objetivo do estudo e procedimentos metodológicos e concordaram de forma explícita fazer parte do mesmo.

O procedimento consistiu na inalação durante 15 minutos do óleo essencial de zimbro ou do placebo (óleo de sésamo) e no preenchimento de um questionário, no

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

qual se registava tipo de dor e a sua intensidade inicial e final, após a aplicação de uma escala de dor. O questionário continha também informações como características socio demográficas, seguido por questões relacionadas com critérios de exclusão.

De modo a executar o objetivo este estudo, antes da aplicação do questionário e inalação, os participantes foram aleatoriamente divididos em dois grupos diferentes, os que inalaram o óleo essencial de zimbro e os que inalaram apenas o placebo. Os intervenientes que receberam o tratamento com o óleo essencial de zimbro, foram agrupados no grupo “A” e os que inalaram o óleo placebo, o grupo controlo, foram designados de grupo “B”. Estes dois grupos foram posteriormente comparados. Assim, o óleo essencial de zimbro e o óleo placebo foram colocados em frascos escuros idênticos, marcados com o código A e B, respetivamente, em que o paciente e o investigador não conheciam as correspondências.

O registo da dor foi baseado numa escala numérica em que os participantes avaliaram a dor, antes e depois da inalação, através da equivalência entre a intensidade da sua dor e classificação numérica. Através desta escala é mais fácil para o inquirido classificar a intensidade da sua dor. A numeração escolhida foi a de 0 a 10, correspondendo o 0 a “ausência de dor” e o 10 a “dor insuportável” (Direção Geral da Saúde, 2003).

Depois de colhidos todos os dados, interpretou-se a informação obtida de todos os pacientes de modo a atingir os resultados e a alcançar as conclusões do estudo.

2.7. Tratamento estatístico

As folhas de registo dos participantes foram codificadas e os dados introduzidos no Microsoft Excel, de modo a evitar erros de digitação.

Posteriormente, os dados recolhidos ao longo do estudo foram tratados com recurso ao programa informático Statistical Package for Social Sciences (SPSS), versão 20. Para analisar se a variável intensidade de dor seguiria uma distribuição normal foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para comparação dos níveis de dor nos dois grupos de estudo, foi utilizado o teste de Wilcoxon, um teste não paramétrico utilizado quando os grupos estudados não seguem uma distribuição normal, com um nível de significância de 0,05.

Capítulo III- Resultados

Neste capítulo, os resultados obtidos a partir da informação adquirida é apresentada através de tabelas e gráficos com os dados estatísticos alcançados.

3.1. Caracterização da amostra

Foram inquiridos 50 elementos, e nesta fase vamos proceder à apresentação das variáveis sócio demográficas, nomeadamente, idade e género.

3.1.1. Género

De seguida apresentam-se os resultados relativos ao género da amostra.

Tabela 1- Género da amostra

Variáveis	Feminino		Masculino	
	Frequência	Percentagem (%)	Frequência	Percentagem (%)
Amostra total	37	74%	13	26%
Grupo zimbro	22	88%	3	12%
Grupo controlo	15	60%	10	40%

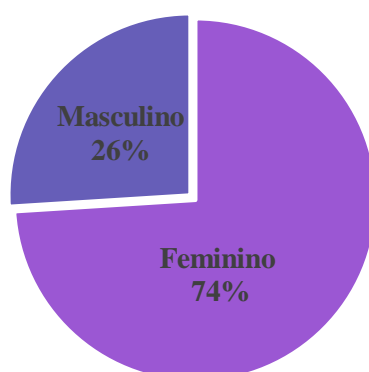


Gráfico 1- Distribuição dos participantes da amostra total por género

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Através da tabela 1 e do gráfico 1, acima apresentados, pode-se concluir que 74% da amostra total é do género feminino e 26% do sexo masculino. No que diz respeito ao “grupo zimbro” pode se verificar que é constituído por 88% pelo sexo feminino, já o “grupo controlo” é caracterizado por 60% do sexo feminino. Assim na variável género, o sexo feminino assume-se como predominante.

3.1.2. Idade

A seguir são expostos os resultados relacionados com a idade da amostra.

Tabela 2- Idade da amostra

Variáveis	Média	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo
Amostra total	54,28	16,88	88,0	22,0
Grupo zimbro	60,84	13,75	88,0	34,0
Grupo controlo	47,72	17,64	77,0	22,0

Como se pode observar pela tabela 2, a idade da amostra total está compreendida entre os 22 e os 88 anos, sendo que a média das idades é de 54,28 anos, com desvio padrão de 16,88 anos. O “grupo zimbro” possui idades entre 34 anos e 88 anos, com média de 60,84 anos e desvio padrão 13,75 anos. Quanto ao “grupo controlo” está entre 22 e 77 anos, com média de 47,72 anos e desvio padrão 17,64.

3.2. A dor

3.2.1. Tipo de dor

Adiante mostram-se os resultados relacionados com o tipo de dor da amostra.

Tabela 3- Tipo de dor da amostra

Tipo de dor		Frequência	Percentagem (%)
Amostra total	Mão	4	8%
	Pulso	4	8%
	Cotovelo	5	10%
	Ombro	9	18%
	Anca	3	6%
	Joelho	21	42%
	Pé	4	8%
Grupo Zimbro	Mão	1	4%
	Pulso	0	0
	Cotovelo	1	4%
	Ombro	6	24%
	Anca	3	12%
	Joelho	11	44%
	Pé	3	12%
Grupo controlo	Mão	3	12%
	Pulso	4	16%
	Cotovelo	4	16%
	Ombro	3	12%
	Anca	0	0%
	Joelho	10	40%
	Pé	1	4%

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

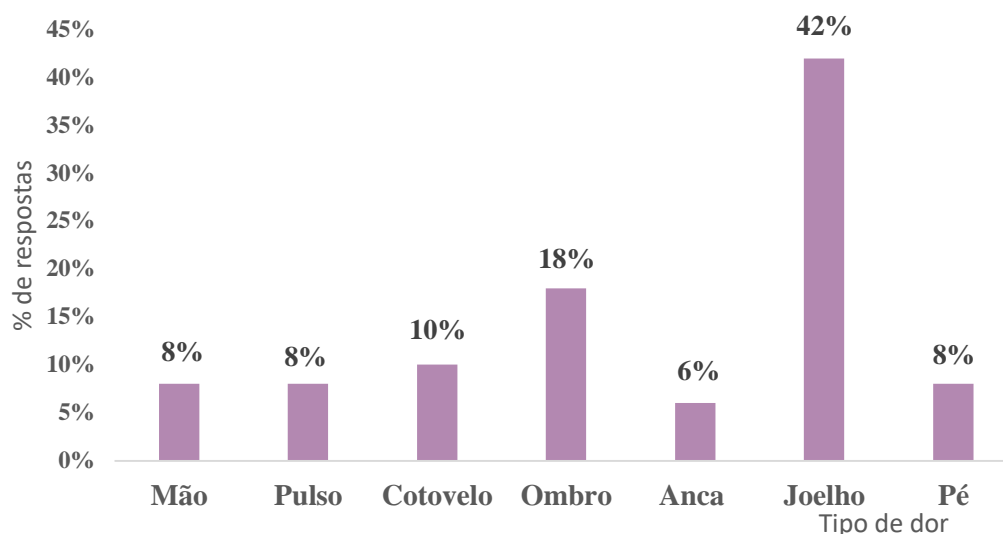


Gráfico 2- Tipo de dor da amostra total

Como se pode verificar pela tabela 3 e também pelo gráfico 2 acima, a dor no joelho apresenta uma percentagem de 42%, já a do ombro possui uma percentagem de 18%. Com 10% apresenta-se a dor de cotovelo e 8% a dor na mão e no pulso. Em menor percentagem 6% apresenta-se a dor na anca. No “grupo zimbro” o tipo de dor que se apresenta em maior percentagem é a do ombro, com 44% e ninguém apresentou dor no pulso. No que diz respeito ao “grupo controlo”, a dor no joelho volta a liderar com 40% e não foram verificados pacientes com dor na anca.

3.2.2. Comparação dos níveis de dor antes e após a inalação

Abaixo são expostos os resultados relativos aos níveis de dor antes e após a inalação da amostra total.

Tabela 4- Teste da normalidade

	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Intensidade de dor pré-inalação	,176	25	,045	,922	25	,056
Intensidade de dor pós-inalação	,230	25	,001	,883	25	,008

a. Lilliefors Significance Correction

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Na tabela 4, estão expressos os resultados do teste da normalidade da variável intensidade da dor, onde se verifica que esta não segue uma distribuição normal, uma vez que o valor de significância do teste é inferior a 0,05 para os valores após a inalação.

• **Grupo Placebo**

A seguir apresenta-se uma comparação dos resultados da intensidade da dor antes e após inalação do “grupo placebo”.

Tabela 5- Dor antes e após inalação do “grupo placebo”

		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intensidade da dor pós-inalação - Intensidade da dor pré-inalação	Negative Ranks	7 ^a	4,14	29,00
	Positive Ranks	1 ^b	7,00	7,00
	Ties	17 ^c		
	Total	25		

a. Intensidade da dor pós-inalação < Intensidade da dor pré-inalação

b. Intensidade da dor pós-inalação > Intensidade da dor pré-inalação

c. Intensidade da dor pós-inalação = Intensidade da dor pré-inalação

No que diz respeito ao “grupo placebo”, observou-se que a dor depois da inalação diminuiu em 7 pessoas, um inquerido afirmou que a dor tinha aumentado, e 17 pessoas asseguraram que a dor depois da inalação se manteve.

Tabela 6- Teste de Wilcoxon do “grupo placebo”

Test Statistics ^a	
	Intensidade da dor pós-inalação - Intensidade da dor pré-inalação
Z	-1,588 ^b
Asymp. Sig. (2-tailed)	,112

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

b. Based on positive ranks.

No que diz respeito ao teste de Wilcoxon, obteve-se valor de p de 0,112 ($p > 0,05$), não se podendo rejeitar por isso a hipótese nula, o que significa que não se conseguiu demonstrar que não ocorreram diferenças significativas entre a intensidade da dor antes e após a inalação.

• **Grupo Zimbro**

Posteriormente apresenta-se uma comparação dos resultados da intensidade da dor antes e após inalação do “grupo zimbro”.

Tabela 7- Dor antes e após inalação do “grupo zimbro”

		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intensidade da dor pós-inalação - Intensidade da dor pré-inalação	Negative Ranks	18 ^a	9,50	171,00
	Positive Ranks	0 ^b	,00	,00
	Ties	7 ^c		
	Total	25		

a. Intensidade da dor pós-inalação < Intensidade da dor pré-inalação

b. Intensidade da dor pós-inalação > Intensidade da dor pré-inalação

c. Intensidade da dor pós-inalação = Intensidade da dor pré-inalação

Quanto ao “grupo zimbro”, 19 pessoas disseram que a dor tinha diminuído, ninguém afirmou que a dor tinha aumentado e apenas 7 pessoas disseram que a dor se manteve.

Tabela 8- Teste de Wilcoxon do “grupo zimbro”

Test Statistics ^a	
	Intensidade da dor pós-inalação - Intensidade da dor pré-inalação
Z	-3,834 ^b
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

b. Based on positive ranks.

O nível de significância do teste ao obtido com o teste de Wilcoxon do “grupo zimbro” revelou o valor 0 ($p < 0,05$), o que conduz à rejeição da hipótese nula e consequente confirmação que os valores são estatisticamente diferentes, ou seja, a intensidade da dor depois da inalação é diferente da intensidade da dor antes da inalação.

Capítulo IV- Discussão

De acordo com os resultados obtidos, pode-se verificar um maior número de participantes do sexo feminino, tanto no “grupo zimbro” como no “grupo controlo”. Estes resultados estão de acordo com um estudo da Direção Geral de Saúde, o qual revela serem as mulheres, as que mais sofrem de patologias articulares (Direcção-Geral da Saúde, 2004).

Em relação ao grupo etário, os participantes apresentaram idades compreendidas entre os 22 e os 88 anos, com uma média da amostra total de 54,28 anos. Os resultados evidenciam que a frequência de dores articulares é mais comum em grupos etários mais avançados, o que vai ao encontro de estudos já realizados (IASP, 2009).

A questão relativa à existência de patologias no trato respiratório, foi incluída uma vez que a existência de hiposmia ou até mesmo anosmia poderia interferir com a inalação do óleo essencial ou do placebo. O olfato é o sentido dos seres humanos menos estudado, porém nos últimos anos são cada vez mais as pesquisas relacionadas com o olfato e com as suas alterações, bem como o impacto na qualidade de vida dos indivíduos (Damm, 2007).

Os distúrbios olfativos são recorrentes, afetando cerca de um quinto da população mundial (Croy *et al.*, 2014). Apesar da maioria dos problemas olfativos serem adquiridos ao longo da vida, existem casos em que os indivíduos nascem sem capacidade olfativa. A este distúrbio designa-se de anosmia congénita, em que há hipoplasia ou aplásica do bulbo olfativo (Abolmaali *et al.*, 2002). Para além deste pode ocorrer aumento da perceção olfação (hiperosmia), distorção de odores (parosmia) e sensação de odores que não existem (fantosmia) (Frasnelli e Hummel, 2004). Quando a função olfativa está ausente, o distúrbio olfativo recebe o nome de anosmia e quando há diminuição do olfato é chamado de hiposmia, em que nestes dois distúrbios as moléculas odoríferas não atingem o epitélio olfativo (Damm, 2007). São vários as causas destes distúrbios, tais como a toma de alguns medicamentos, envelhecimento, patologias nasais, stress e também problemas nutricionais (Frasnelli e Hummel, 2004).

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

O olfato humano permite detetar e distinguir uma infinidade de odores devido aos numerosos recetores olfativos que existem nos neurónios sensoriais olfativos (Landis *et al*, 2004). Considerando esta perceção um processo complexo que envolve a interação de cerca de 400 recetores, é provável que a codificação do odor seja vulnerável a alterações induzidas por alguns medicamentos (Lotsch *et al*, 2012). Segundo vários estudos, a inativação da transdução pode dever-se à reposição dos níveis basais de cAMP ou através de um processo feedback negativo sobre o canal nucleotídico cíclico devido à ação do complexo cálcio calmodulina (Ennis *et al.*, 2007).

Os opióides, como a morfina e o remifentanil, ou canabinóides, como tetrahidrocanabinol, podem perturbar esta transdução, através da ligação aos seus recetores específicos que são expressos em muitas regiões do cérebro, reduzindo assim a sensibilidade olfativa, diminuindo os níveis intracelulares de adenosina monofosfato cíclico (AMPC). Os bloqueadores dos canais de cálcio, como nifedipina e diltiazam levam a uma diminuição da função olfativa, devido à deficiência de impulso mediada pelo cálcio para transmissão para o bulbo olfativo. A anosmia induzida pela cocaína deve-se a obstrução dos nervos olfativos e da mucosa olfativa. Outros medicamentos como sildenafil, ciprofloxacina, lovastatina e metotrexato também levam a diminuição da sensibilidade olfativa (Lotsch *et al*, 2012).

Assim, anosmia ou a hiposmia pode ocorrer entre dias a anos e pode ser reversível ou irreversível, consoante o tempo de exposição, a concentração e a toxicidade da substância (Herberhold., 2008).

Durante o questionário não foram relatados casos com este tipo de medicamentos, assim não houve interferência de medicamentos com a capacidade olfativa.

A dor é um mecanismo de proteção fundamental para a sobrevivência humana e o seu bem-estar (Basbaum *et al.*, 2009). De acordo com estudos realizados pela associação internacional do estudo da dor, a dor do joelho é o tipo mais comum de dor articular. Como a dor no joelho afeta a qualidade da vida dos pacientes e a sua mobilidade, faz com que procurem ajuda médica regularmente (IASP, 2016). Neste contexto, no HE-UFP a dor no joelho prevaleceu relativamente aos outros tipos de dor, com 42%. A dor na anca foi a que se apresentou em menor percentagem.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

A avaliação da dor no doente tem como objetivo identificar a intensidade da dor, estimando o seu impacto no indivíduo. Existem diferentes metodologias para avaliar, entre as quais a escala visual analógica, escala numérica, escala qualitativa, escala descritiva verbal e a escala de faces. As escalas são instrumentos de aplicação simples, económicos e de baixo custo, além de possibilitar maior interação e aproximação com os pacientes. Na escala numérica verbal o paciente sugere um número para representar a intensidade da dor num intervalo de zero a dez, sendo que zero significa ausência de dor e dez uma dor intensa e insuportável. As principais vantagens da escala descritiva verbal é a facilidade e a rapidez da sua aplicação. A desvantagem é o número reduzido de descritores para resposta, forçando o paciente a escolher um deles mesmo que não seja o mais adequado para expressar a sua dor. É importante que o doente colabore conscientemente com o avaliador e que a escala usada seja sempre a mesma (Direção Geral da Saúde, 2003).

Para realizar uma análise estatística pode-se recorrer a testes paramétricos, ou então, testes não paramétricos. Porém para utilizar testes paramétricos, é necessário, que se obedeça a determinados critérios, incluindo que os dados sigam uma distribuição normal. Neste estudo foram realizados os testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilk (Torman *et al.*, 2012). Para amostras com mais de 30 inquiridos utiliza-se o teste de Kolmogorov-Smirnov, sendo o teste Shapiro-Wilk usado para amostras reduzidas. Como o p-valor é menor que 0,2 não se aceita a normalidade (Lopes *et al.*, 2013). No nosso estudo não foi possível validar a normalidade das variáveis das amostras antes e após a inalação do óleo essencial de zimbro, recorreu-se por isso a testes não paramétricos, nomeadamente o teste de Wilcoxon. O teste de Wilcoxon é normalmente aplicado quando se pretende comparar duas amostras emparelhadas, de modo a verificar se existem diferenças significativas entre os resultados nas situações em causa. Assim, de modo a provar estatisticamente a diferença entre os grupos zimbro e placebo procedeu-se à aplicação do teste de Wilcoxon.

Através da observação de resultados, quanto ao "grupo placebo" obteve-se o valor teste de 0,112, e assim o valor de p é maior que 0,05. Com estes resultados, a intensidade de dor não foi significativamente diferente antes e após a inalação.

Quanto ao "grupo zimbro" encontram-se evidências suficientes para afirmar, a um nível de significância de 0,05, que as distribuições dos valores das variáveis "dor

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

antes da inalação” e “dor após inalação” possuem diferenças significativas, pois o valor de p é menor que 0,05 (valor do teste 0), rejeitando assim a hipótese nula. Como a hipótese nula é rejeitada pode-se concluir que a diminuição da dor devido ao óleo essencial de zimbro foi estatisticamente significativa. No “grupo zimbro”, de uma forma geral, há uma melhoria, baixando os níveis de dor após a inalação.

De acordo com os resultados deste estudo, em comparação com o que já vem sendo descrito na literatura, pode dizer-se que a inalação do óleo essencial de zimbro é útil no tratamento de dores articulares, (Kumar *et al*, 2009, Akkol *et al*, 2009, Pepeljnjak *et al.*, 2005).

Estudos realizados através da comparação do poder analgésico do zimbro com o ácido acetilsalicílico confirmam a sua atividade analgésica central, produzindo uma inibição significativa de dor (Bais *et al.*, 2014). Outros estudos revelam que o efeito relaxante do óleo essencial de zimbro se deve à inibição da libertação de prostaglandinas (Akdogan *et al*, 2012, Banerjee *et al*, 2012).

É necessário também ter em atenção que a capacidade olfatória sofre um declínio considerável com o aumento da idade, como a média das idades do grupo placebo é de 47,72 anos e no grupo zimbro 60,84 anos poderá o teste ter sido menos eficaz no grupo zimbro (Neto *et al.*, 2011).

Deste modo, através da análise dos resultados pode-se dizer que os participantes do “grupo zimbro” apresentaram, de um modo geral, uma melhoria significativa, baixando os níveis de dor após a inalação.

Capítulo V- Conclusão

Os óleos essenciais são usados desde da antiguidade, não só pelas suas propriedades aromatizantes, mas também pela sua ação terapêutica. Através de uma extensa pesquisa na literatura, a planta *Juniperus communis* revelou-se importante devido as suas propriedades medicinais e farmacológicas, auxiliando no tratamento de várias patologias. Porém devido à sua complexidade e diversidade de constituintes, ainda existem vários estudos a realizar.

A aromaterapia, prática eleita para avaliar o poder analgésico do óleo de zimbro, é uma técnica útil que promove a saúde, o bem estar, a qualidade de vida, mas que ainda gerou algumas inquietações entre os participantes do estudo. Esta prática é a uma das terapias mais bem aceites pelos pacientes por ser de agradável aplicação, menos invasiva e também para prevenção de determinadas doenças.

A dor deve ser encarada como um problema de saúde pública, pois causa danos pessoais e sociais, além de diminuir significativamente a qualidade de vida. Este estudo pretendeu avaliar a eficácia do óleo essencial de zimbro na diminuição da dor em patologias articulares dos membros superiores e inferiores. Embora se trate de um estudo em pequena escala, podemos observar que obtivemos resultados relevantes. No que diz respeito ao “grupo zimbro”, houve uma diminuição estatisticamente significativa a nível de dor, enquanto que no “grupo controlo” não houve mudança significativa na intensidade da dor.

Embora os resultados sejam preliminares, devido à dimensão limitada da amostra e tempo de inalação, o estudo revelou que o óleo essencial de zimbro, quando inalado poderá diminuir a intensidade da dor. Futuramente serão necessários estudos de maior amplitude de modo a obter um significado estatístico superior. Para uma avaliação mais consistente, deverão realizar-se estudos adicionais de modo a confirmar as suas propriedades medicinais e desenvolvimento de formulações que contenham esta planta para as suas aplicações nas práticas clínicas. Para além de alargar a amostra, seria interessante especializar melhor a variável “dor”, recorrendo a critérios mais específicos de medição, como a determinação bioquímica de concentrações de fatores moduladores da dor, como a serotonina e também verificação de incapacidades funcionais. É necessário também novas pesquisas sobre novas vias de aplicação, frequência e

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

dosagem do óleo essencial de zimbro, assim existirá maior segurança para os que o utilizam.

Assim o uso da fitoterapia poderá passar da sabedoria popular, para terapia complementar. O reconhecimento dos vários benefícios das terapias não convencionais poderá ser um reforço no sentido de potencializar esta prática nos sistemas de saúde. É fundamental que se continue a investigar e estudar as propriedades terapêuticas do zimbro para se torne mais uma opção terapêutica. Assim poderá diminuir-se a perda de produtividade que tem consequências não só psicológicas, mas também consequências socio económicas para o paciente.

Capítulo VI- Referências bibliográficas

Abarca, L., et al. (2015). Chemical composition of scented extracts obtained from *Calendula officinalis* by three extraction methods. *Botanical Sciences*, 93 (3), pp. 633-638.

Abolmaali, N., et al. (2002). Evaluation in patients with isolated anosmia since birth or early childhood. *Neuroradiol*, 23, pp. 157–164.

Akdogan, M., et al. (2012). Anti-hypercholesterolemic activity of *Juniperus communis* Lynn Oil in rats: A biochemical and histopathological investigation. *Biomedical Research*, 23 (3), pp. 321-328.

Akkol, E., et al. (2009). Comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa. *Journal Ethnopharmacol*, 125 (2), pp. 330-336.

Ali, B., et al. (2015). Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5 (8), pp. 601-611.

Almeida, R., et al. (2001). Plants with central analgesic activity. *Phytomedicine*, 8 (4), pp. 310–322.

Alvarado, B., et al. (2014). Evaluación del efecto antiinflamatorio de *Senecio confusus*. *Ciencias Naturales y Exactas*, 18 (7), pp. 163-170.

Andrade, B., et al. (2013). Antimicrobial activity of essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 26 (1), pp. 34-40.

Angioni, A. et al. (2003). Chemical Composition of the Essential Oils of *Juniperus* from Ripe and Unripe Berries and Leaves and Their Antimicrobial Activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51 (10), pp. 3073-3078.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Anjos, O., et al. (2013). Caracterização de uma bebida alcoólica tradicional portuguesa, preparada com maceração de bagas de zimbro, *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 28 (2), pp. 59-69.

Arosa, F., et al. (2012). *Fundamentos de Imunologia*. Lisboa, Lidel.

Asbahania, A., et al. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483 (1), pp. 220–243.

Associação portuguesa para o estudo da dor (APED) (2003). Fisiopatologia da dor. [Em linha]. Disponível em <http://www.aped-dor.org/images/biblioteca_dor/documentos/Fisiopatologia_da_Dor_.pdf>. [Consultado em 15/04/2016].

Associação portuguesa para o estudo da dor (APED) (2010). Artralgia. [Em linha]. Disponível em <<http://www.aped-dor.org/images/FactSheets/DorMusculoEsqueletica/pt/JointPain.pdf>>. [Consultado em 23/04/2016].

Bais, S., et al. (2014). A Phytopharmacological Review on a Medicinal Plant: *Juniperus communis*. *International Scholarly Research Notices*, 14, pp. 1-6.

Bakkali, F., et al. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, pp. 446–475.

Banerjee, S., et al (2012). Evaluation of analgesic activities of methanolic extract of medicinal plant *Juniperus communis*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4 (5), pp. 547-550.

Basbaum, A., et al (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139 (2), pp. 267–284.

Başer, K. e Demirci, F. (2007). *Flavours and Fragrances*, Springer Berlin Heidelberg.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Bhalla, V., et al. (2013). Anticancer activity of essential oils: a review. *Society of Chemical Industry*, 93 (15), pp. 3643–3653.

Bial (2016). Sistema Músculo Esquelético. [Em linha]. Disponível em <https://www.bial.com/pt/a_sua_saude.10/areas_terapeuticas_bial.13/sistema_musculo_esqueletico.41/osteoartrite.a65.html>. [Consultado em 29/04/2016].

Brouwers., H. et al. (2015). Lipid mediators of inflammation in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Best Practice and Research Clinical Rheumatology*, 29 (6), pp. 741–755.

Buchanan, B., et al. (2000). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. New Jersey, American Society of Plant Physiologists.

Cangueral, S. (2002). La fitoterapia: una terapéutica para el tercer milenio. *Revista de Fitoterapia*, 2 (2), pp. 101-122.

Cannard, G. (1996). The effect of aromatherapy in promoting relaxation and stress reduction in a general hospital. *Complementary Therapies in Nursing and Midwifer*, 2, pp. 38-40.

Cardoso, A. et al. (2005). Regras de Ouro D em Reumatologia. [Em linha]. Disponível em <http://www.spreumatologia.pt/files/book/f7_cat1_8_regras_de_ouro_em_reumatologia_file.pdf>. [Consultado em 15/04/2016].

Catani, M., et al. (2013). A revised limbic system model for memory, emotion and behaviour. *Neuroscience and Biobehavioral reviews*, 37, pp. 1724-1737.

Cavaleiro, C. (2007). Plantas aromáticas e óleos essenciais em farmácia e medicina. *Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais*, 3, pp. 55-62.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Cavaleiro, C. (2001). Óleos Essenciais *Juniperus* de Portugal I e II. [Em linha]. Disponível em < <http://hdl.handle.net/10316/529>>. [Consultado em 12/02/2016].

Cooke, B. e Ernst, E. (2000). Aromatherapy: a systematic review. *British Journal of General Practice*, 50, pp. 493-496.

Corbacho, M. e Dapuetto, J. (2010). Avaliação da capacidade funcional e da qualidade de vida de pacientes com artrite reumatoide. *Revista brasileira de reumatologia*, 50 (1), pp. 31-43.

Craig, A., et al. (2004). Toxicity studies on western *juniper* oil (*Juniperus occidentalis*) and Port-Orford-cedar oil (*Chamaecyparis lawsoniana*) extracts utilizing local lymph node and acute dermal irritation assays. *Toxicology Letters*, 154 (3), pp. 217-24.

Croy, L., et al. (2014). Olfactory Disorders and Quality of Life. *Chemical Senses*, 39 (3), pp. 185-194.

Cunha, A., et al. (2003). *Plantas e produtos vegetais em fitoterapia*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Cunha, A., et al. (2004). *Plantas e produtos vegetais em cosmética e dermatologia*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Cunha, A., et al. (2012). *Plantas aromáticas e óleos essenciais: composição e aplicações*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Damm, M., (2007). Diagnosis of olfactory disorders, Clinical standars and research. *Laryngorhinootologie*, 86 (8), pp. 565-72.

Decreto- Lei nº 45/2003, de 22 de Agosto - Lei do enquadramento base das terapêuticas não convencionais, Diário da República, I série, nº 193.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Direcção-Geral da Saúde (2001): Plano Nacional de Luta Contra a Dor. [Em linha]. Disponível em http://www.academia.edu/350728/Plano_Nacional_de_Luta_Contra_a_Dor_National_Plan_for_the_Fight_Against_Pain_. [Consultado em 07/02/2016].

Direção Geral da Saúde (2003): A Dor como 5º sinal vital. [Em linha]. Disponível em <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/circular-normativa-n-9dgcg-de-14062003.aspx>. [Consultado em 11/04/2016].

Direcção-Geral da Saúde (2004): Programa Nacional contra as doenças reumáticas. [Em linha]. Disponível em <http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i006345.pdf>. [Consultado em 02/06/2016].

Djilani , A. e Dicko, A. (2012). The Therapeutic Benefits of Essential Oils. *Nutrition, Well-Being and Health*, 7, pp. 144-178.

Du, Y., et al. (2014). Use of herbal medicinal products among children and adolescents in Germany. *Complementary and Alternative Medicine*, 14 (218), pp. 1472-6882.

Eckhard., U. et al. (2016). Active site specificity profiling datasets of matrix metalloproteinases (MMPs) 1, 2, 3, 7, 8, 9, 12, 13 and 14. *Data in Brief*, 7, pp. 299–310.

Edris, A. (2007). Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review. *Wiley InterScience*, 21, pp. 308–323.

Elmastas, M. et al. (2007). A Study on the In Vitro Antioxidant Activity of *Juniper* (*Juniperus communis* L.) Fruit Extracts. *Analytical Letters*, 39 (1), pp. 47-65.

Ennis, M. et al. (2007). Neurochemistry of the Main Olfactory System, *Neurochemistry and Molecular Neurobiology*, pp. 139-182.

European medicines agency (2004). Herbal medicinal products. [Em linha]. Disponível em

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

<http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000208.jsp>. [Consultado em 12/02/2016].

European medicines agency (2009). Assessment report on *Juniperus communis* L., pseudofructus. [Em linha]. Disponível em <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_HMPC_assessment_report/2011/02/WC500102144.pdf>. [Consultado em 05/04/2016].

Evandri, M., et al. (2005). The antimutagenic activity of *Lavandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. *Flavour and Fragrance Journal*, 43 (9), pp. 381-1387.

Figueiredo, A. et al. (2007). Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais. Curso Teórico-Prático, Edição Centro de Biotecnologia Vegetal – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

Figueiredo, A. et al. (2014). *Juniperus Navicularis* Gand. *Hortofruticultura e Floricultura*, pp. 22-24.

Frasnelli J. e Hummel, T. (2005). Olfactory dysfunction and daily life. *European Archives of Otorhinolaryngology*, 262, pp. 231–238.

García, P., et al. (2008). Phytotherapy and psychiatry: Bibliometric study of the scientific literature from the last 20 years. *Phytomedicine*, 15, pp. 566-576.

Gnatta, J. et al. (2011). O uso da aromaterapia no alívio da ansiedade. *Acta Paul Enferm*, 24 (2), pp. 257-263.

Guyton, A. (1992). *Tratado de fisiologia médica*. Guarabara, Koogan,

Hallahan, D. (2000). Monoterpenoid biosynthesis in glandular trichomes of Labiate plants. *Advances in Botanical Research*. 31, pp. 77-120.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Hamid, A., et al. (2011). Essential oils: its medicinal and pharmacological uses. *International Journal of current research*, 33 (2), pp. 86–98.

Herberhold., C. (2008). Evaluating function and disorders of smell. *Archives of Otorhinolaryngology*, 210 (1), pp. 67-164.

Horowitz, S. (2011). Aromatherapy: current and emerging applications. *Alternative and Complementary Therapies*, 17 (1), pp. 26-31.

Infarmed (2008). INFARMED 15 anos: olhar o passado, projetar o futuro. [Em linha]. Disponível em <http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/INSTITUCIONAIS/15_ANOS/pdf_FINAL_infarmed.pdf>. [Consultado em 22/03/2016].

Institute for Healthcare Informatics (2014). [Em linha]. Disponível em <http://static.correofarmaceutico.com/docs/2014/12/01/informe_ims.pdf>. [Consultado em 13/02/2016].

International Association for Study of Pain (IASP) (2009). Artralgia. [Em linha]. Disponível em <http://www.iasp-pain.org/files/Content/ContentFolders/GlobalYearAgainstPain2/MusculoskeletalPainFactSheets/JointPain_Portuguese.pdf>. [Consultado em 12/06/2016].

International Association for Study of Pain (IASP) (2012). Pain. [Em linha]. Disponível em <<http://www.iasp-pain.org/Taxonomy#Pain>>. [Consultado em 15/02/2016].

International Association for Study of Pain (IASP) (2016). IASP Sponsors Global Year Against Pain in the Joints. [Em linha]. Disponível em <<http://iasp.files.cms-plus.com/AM/Images/GYAP/2016GYJointPain/Global%20Year%20News%20Release.1-11-16.pdf>>. [Consultado em 23/02/2016].

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

International Association for Study of Pain (IASP) (2016). Global Year Against Pain in the Joints. [Em linha]. Disponível em < <http://www.iasp-pain.org/globalyear>>. [Consultado em 22/04/2016].

Joa, J., et al. (2015). Use and safety of Korean herbal medicine during pregnancy: A Korean medicine literature review. *European Journal of Integrative Medicine*, 8 (1), pp. 468-476.

Juhás, S., et al (2008). Original Article Effects of Borneol and Thymoquinone on TNBS-Induced Colitis in Mice. *Folia Biologica*, 54, pp. 1–7.

Jurado, F., et al. (2014). Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and Their Modeling. *Food Engineering Reviews*, 7 (3), pp. 275-297.

Kala, C. (2015). Medicinal and aromatic plants: Boon for enterprise development. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2 (4), pp. 134-139.

Kang, N. e Koo, J. (2012). Olfactory receptors in non-chemosensory tissues. *BMB Reports*, pp. 612-622.

Klaumann, P., et al. (2008). Patofisiologia da dor. *Archives of Veterinary Science*, 13, pp. 1-12.

Kumar, A., et al. (2007). Chemical Composition of Commercial *Juniperus communis* L. Leaf Oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10 (4), pp. 310-313.

Kumar, M. et al. (2009). An Ethnobotanical Study of Medicinal Plants used by the Locals in Kishtwar, Jammu and Kashmir, India. *Ethnobotanical Leaflets*: 10 (5), pp. 1240-1256.

Landis, B., et al. (2004). A Study on the Frequency of Olfactory Dysfunction. *The Laryngoscope*, 114, pp. 1764–1769.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Larkeche, O., et al. (2015). Supercritical extraction of essential oil from *Juniperus communis* L. needles: Application of response surface methodology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 99, pp. 8–14.

Liga Portuguesa contra as Doenças Reumáticas (2014). Osteoartrose. [Em linha]. Disponível em < <http://www.lpcdr.org.pt/info-doente/patologias/osteoartrose>. [Consultado em 29/04/2016].

Longe, J., et al. (2004). *Manual de medicinas complementares*. Barcelona, Oceano.

Lopes, M. et al (2013). Utilização dos testes estatísticos de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk para verificação da normalidade para materiais de pavimentação. *Associação Nacional de Pesquisa e Ensino em Transportes*, 21 (1), pp. 59-66.

Lotsch, J., et al. (2012). Sniffing out pharmacology: interactions of drugs with human olfaction. *Trends in pharmacological sciences*, 33 (4), pp. 193-199.

Malanga, G. e Paster, Z. (2007). Update on managing chronic pain in the elderly. *Journal Family Practice*, 56 (12), pp. 11-6.

Maques, A. e Kondo, A. (1998). A fisioterapia na osteoartrose. *Revista Brasileira Reumatologia*, 38 (2), pp. 83-90.

Merck Sharp e Dohme (2016). [Em linha]. Disponível em < <http://www.manuaismsd.pt/?id=87&cn=848&ss=>>. [Consultado em 18/04/2016].

Marija, M., et al. (2014). Phytochemical composition and antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities of *Juniperus macrocarpa*. *Journal of Functional Foods*, 7, pp. 257-268.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Martins, A., et al. (2011). Requisitos de qualidade em óleos essenciais: a importância das monografias da Farmacopeia Europeia e das normas ISO. *Revista de Fitoterapia*, 11 (2), pp. 133-145.

Miguel, M. (2010). Antioxidant and anti-Inflammatory activities of essential oils: A Short Review. *Molecules*, 15, pp. 9252-9287.

Milojevic, S. et al (2008). Kinetics of distillation of essential oil from comminuted ripe juniper (*Juniperus communis* L.) berries. *Biochemical Engineering Journal*, 39 (3), pp. 547-553.

Moore, K. et al (2014). *Anatomia orientada para a clínica*, Philadelphia, Guanabara.

Msadda, K., et al. (2012). Comparison of Different Extraction Methods for the Determination of Essential oils and Related Compounds from Coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Acta Chim Slov*, 59 (4), pp. 803-13.

Nagegowda, D. (2010). Plant volatile terpenoid metabolism: Biosynthetic genes, transcriptional regulation and subcellular compartmentation. *FEBS Letters*, 584, 2965–2973.

National Center for Complementary and Integrative Health (NCCAM) (2008). [Em linha]. Disponível em <<http://nccam.nih.gov/health/whatiscaf>>. [Consultado em 01/02/2016].

Neto, F. et al. (2011). Anormalidades sensoriais: olfato e paladar. *Arquivos Internacionais de Otorrinolaringologia*, 15 (3), pp. 350-358.

Numata, T. et al. (2016). IL-33 promotes ICAM-1 expression via NF-κB in murine mast cells. *Allergology International*, 65 (2), pp. 158-165.

Ody, P. (2000). *O guia completo das plantas medicinais*, Londres, Dorling Kindersley.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Orav, A., et al. (2010). Comparative analysis of the composition of essential oils and supercritical carbon dioxide extracts from the berries and needles of Estonian juniper (*Juniperus communis L.*), *Procedia Chemistry*, 2, pp. 161–167.

Ozkan, Y. et al (2007). Oxidative status in rheumatoid arthritis. *Clinic Rheumatol*, 26 (1), pp. 64-68.

Pelletier, J. et al. (2001). Osteoarthritis, an Inflammatory Disease Potential Implication for the Selection of New Therapeutic Targets. *Arthritis and rheumatism*, 44 (6), pp 1237–1247.

Pepeljnjak, S., et al. (2005). Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (*Juniperus communis L.*, *Cupressaceae*). *Acta farmacêutica*, 55 (4), pp. 417-422.

Peres, P. e Comune., D. (2005). Aromaterapia e suas aplicações. *Cadernos- Centro Universitário São Camilo São Paulo*, 11 (4), pp 57-68.

Rang, H. e Dale, M. (2004). *Farmacologia*, Londres, Guanabara Koogan.

Raut, J. e Karuppayil, S. (2015). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62, pp. 250-264.

Robbat , A., et al. (2011). Tracking juniper berry content in oils and distillates by spectral deconvolution of gas chromatography/mass spectrometry data. *Journal of Chromatography A*, 1218 (32), pp. 5531-41.

Kumar, V. et al. (2010). *Robbins e Cotran - Patologia - Bases Patológicas das Doenças*, Elsevier.

Ronnett, V. e Moon, C. (2002). G proteins and olfactory signal transduction. *Annual Review of Physiology*, 64, pp. 189-222.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Rosa, M. e Machado, C. (2007). Plantas medicinais utilizadas no tratamento de doenças reumáticas. *Revista portuguesa de farmacologia*, 88 (1), pp. 26-32.

Ryman, D. (1995). *Aromaterapia: enciclopedia de las plantas aromáticas y de sus aceites esenciales*. Kairós

Saad, N., et al. (2013). Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 28 (5), pp. 269-279.

Sánchez, L., et al. (2014). Uso de terapias alternativas, desafío actual en el manejo del dolor. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 21 (6), pp. 338-344.

Seeley, R. et al. (2011). *Anatomia e fisiologia*, Lusodidata.

Serviço Nacional de Saúde (2005). Dor. [Em linha]. Disponível em <<http://www2.portaldasaude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/ministeriosaude/cuidados+paliativos/dor.htm>>. [Consultado em 14/04/2016].

Sharma, L. (2016). Osteoarthritis year in review 2015: clinical. *Osteoarthritis and Cartilage*, 24 (1), pp. 36-48.

Shaw, D. (2010). Toxicological risks of Chinese herbs. *Planta Medica*, 76 (17), pp. 2012-2018.

Shawa, D., et al. (2012). Pharmacovigilance of herbal medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 140 (3), pp. 513–518.

Shi, S. e Klotz, U. (2012). Drug Interactions with Herbal Medicines. *Clinical Pharmacokinetics*, 51 (2), pp. 77-104.

Simões, O., et al. (2000). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Florianópolis, UFSC.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Smith, C., *et al.* (2011). Aromatherapy for pain management in labour. *The Cochrane*, 8 (7), pp. 28-29.

Sociedad Española de Reumatología (2010). *Artrosis, Fisiopatología, diagnóstico y tratamiento*. Editorial Médica Panamericana.

Tafurt, G., *et al.* (2005). Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales en emulsiones degradadas por radiación ultravioleta. *Revista colombiana de Química*, 34, pp. 43-55.

Tholl, D. (2006). Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9, pp. 1–8

Thorgrimsen, *et al.* (2007). Aromaterapia para la demência. *La Biblioteca Cochrane Plus*, 3, pp. 1-13.

Torigoe, D. e Laurindo, I. (2006). Artrite Reumatóide e Doenças Cardiovasculares. *Revista Brasileira de reumatologia*, 46 (1), pp. 60-66.

Torman, V. *et al.* (2012). Normalidade de variáveis: métodos de verificação e comparação de alguns testes não-paramétricos por simulação. *Revista HCPA*, 32 (2), pp. 227-234.

Vale, T., *et al.* (2003). Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba*, *Phytomedicine*, 9 (8), pp. 709-14.

Vian, M., *et al.* (2008). Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *Journal of Chromatography A*, 1190 (2), pp. 14–17.

Vigan, M. (2010). Essential oils: renewal of interest and toxicity. *European Journal of Dermatology*, 20 (6), pp. 685–692.

Atividade anti-inflamatória e analgésica do óleo essencial de zimbro em patologias articulares

Wagner, H. (2006). Futuro en la investigación en Fitoterapia: tendencias y retos. *Revista de Fitoterapia*, 6 (2), pp. 101-117.

Weiss, R. e Fintelmann, V. (2000). *Herbal Medicine*. Nova York, Thieme.

Wilkinson, J. (2004). Aromatherapy practice in nursing: literature review. *Journal of Advanced Nursing*, 48 (1), pp. 93-103.

World Health Organization (WHO) (2000). [Em linha]. Disponível em <<http://www.who.int/medicines/areas/traditional/definitions/en/>> [Consultado em 2/02/2016].

World Health Organization (WHO) (2008). [Em linha]. Disponível em <http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/EN_WHS10_Full.pdf> [Consultado em 13/02/2016].

World Health Organization (WHO) (2013). [Em linha]. Disponível em <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098_spa.pdf> [Consultado em 14/02/2016].

Yoshihara, Y. et al. (2000). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Rheumatic diseases*, 59, pp. 455-461.

Anexos

Anexo 1

Comissão de ética para a saúde do Hospital-Escola da Fundação Fernando Pessoa

PARECER N.º 8

A Comissão de Ética para a Saúde do Hospital-Escola da Fundação Fernando Pessoa (CES-HE-FFP) dá parecer positivo ao projecto “Avaliação do efeito analgésico do óleo essencial de zimbro na dor articular” apresentado pela Doutora Cristina Abreu, investigadora principal.

15.02.2016

Marina Lencastre

Vice-Presidente da Comissão de Ética para a Saúde do Hospital-Escola da Fundação Fernando Pessoa

Anexo 2

Código: _____

Folha de registo do participante

Solicito a sua colaboração no preenchimento da folha de registo que se destina à caracterização dos participantes no estudo. O estudo é anónimo e garante-se a total confidencialidade dos dados.

Antecipadamente agradece-se a sua preciosa colaboração.

1. Data ___/___/___

2. Caracterização do Participante

2.1 Género: Feminino _____ Masculino _____

2.2 Data de Nascimento ___/___/___

2.3. Existência de patologias do trato respiratório superior

Sim _____ Não _____

2.4. Medicação que está a tomar:

3. Tipo de dor

4. Registo pré-inalação Escala da dor: _____

5. Registo pós-inalação Escala da dor: _____

Observações:
