

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE MEDICINA**

**ELIS MARINA MUSSI DOS REIS**

**ESTUDO EXPERIMENTAL DOS EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE *Orbignya phalerata* (BABAÇU) NA PLEURA E PARÊNQUIMA PULMONAR DE RATOS**

**SÃO LUÍS  
2016**

**ELIS MARINA MUSSI DOS REIS**

**ESTUDO EXPERIMENTAL DOS EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE *Orbignya phalerata* (BABAÇU) NA PLEURA E PARÊNQUIMA PULMONAR DE RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Universidade Federal do  
Maranhão - UFMA como exigência para  
obtenção do grau de médico.

Orientador: Prof. Dr. Elias Amorim

**SÃO LUÍS**

**2016**

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

Reis, Elis Marina Mussi dos.

ESTUDO EXPERIMENTAL DOS EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE  
Orbignya phalerata BABAÇU NA PLEURA E PARÊNQUIMA PULMONAR  
DE RATOS. - 2016.

32 f.

Orientador(a): Elias Amorim.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Curso de  
Medicina, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,  
2016.

1. Babaçu. 2. Orbignya phalerata. 3. Fitoterapia. 4.  
Pleura. 5. Pulmão. I. Amorim, Elias. II. Título.

**ELIS MARINA MUSSI DOS REIS**

**ESTUDO EXPERIMENTAL DOS EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE *Orbignya phalerata* (BABAÇU) NA PLEURA E PARÊNQUIMA PULMONAR DE RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Universidade Federal do  
Maranhão - UFMA como exigência para  
obtenção do grau de médico.

Orientador: Prof. Dr. Elias Amorim

Aprovado em: ...../...../.....

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**Prof. Dr. Elias Amorim - Orientador**  
**Universidade Federal do Maranhão**

---

**Prof. Dr. Josiel Paiva Vieira - Examinador 1**  
**Universidade Federal do Maranhão**

---

**Prof. Dr. Manoel Lages Castello Branco Neto - Examinador 2**  
**Universidade Federal do Maranhão**

---

**Prof. Dr. José Aparecido Valadão - Examinador 3**  
**Universidade Federal do Maranhão**

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a Deus, base forte, fonte de determinação e amor.

Ao meu pai, fonte de inspiração e incentivo, que acredita em mim mais do que eu mesma.

À minha mãe, fonte inesgotável de carinho e cuidado, por colocar os filhos sempre em primeiro lugar.

À minha irmã, meu porto seguro nos momentos difíceis.

Aos meus amigos, sempre presentes.

Aos meus mestres, pelos exemplos e conhecimentos.

À Liga de Cirurgia Experimental do Maranhão e ao meu orientador por possibilitarem esse trabalho.

À Universidade Federal do Maranhão por tornar esse sonho possível.



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por ter me fortalecido e amparado apesar de todas as adversidades nesse caminho e por ter me dado a oportunidade de realizar esse grande sonho.

Ao meu pai, meu maior incentivador, que não mediu esforços para que essa realização se concretizasse e por nunca, nem por um instante, duvidar do meu sucesso. Agradeço por ser meu grande exemplo, por ter exigido sempre o melhor de mim e por ter me incentivado nessa jornada desde criança.

À minha mãe, fonte inesgotável de amparo e carinho, por aceitar que as filhas morassem longe e seguissem seus caminhos apesar do sofrimento e saudade que isso causaria. Por todo o cuidado, preocupação e zelo com minha educação e bem-estar.

À minha amada irmã Mayara, por ter sempre os melhores conselhos e palavras de motivação. Obrigada por ser meu abrigo nas curvas que enfrentei até aqui.

Aos meus amigos, por estarem sempre por perto e compreenderem minha ausência. Às amigas que fiz em São Luís, pela convivência diária e por se tornarem minha família longe de casa.

À Liga Acadêmica de Cirurgia Experimental do Maranhão, pelos conhecimentos de vida, liderança e convivência proporcionados e por viabilizar a execução desse trabalho.

Ao meu orientador e professor Elias Amorim, por toda a paciência e dedicação a mim dedicadas e por ser um grande exemplo de mestre e profissional a ser seguido.

Agradeço à Universidade Federal do Maranhão e à cidade de São Luís por me proporcionarem a incrível experiência desse curso e por me fazerem sentir em casa.

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar as alterações macroscópicas e histopatológicas do extrato aquoso de babaçu (*Orbignya phalerata*) no parênquima pulmonar e pleura de ratos. **Método:** Foram utilizados 60 *Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*, variação Wistar, machos, adultos, com peso médio de 200 g, randomizados em dois grupos de 30 (experimento e controle) e subdivididos em grupos de 10 para serem submetidos a morte com 48 e 72 horas e 21 dias. A substância foi injetada diretamente na pleura direita dos animais. **Resultado:** Observou-se intensa reação macroscópica pleuropulmonar com significância estatística entre os grupos e em diferentes momentos. Microscopicamente não apresentou significância estatística. **Conclusão:** O extrato aquoso de babaçu (*Orbignya phalerata*) revelou ser muito irritante para a pleura e parênquima pulmonar de ratos, fato este reconhecido macroscopicamente através de inúmeras aderências e reações inflamatórias; paradoxalmente, à microscopia não apresentou maiores alterações.

**Palavras-chave:** Babaçu. *Orbignya phalerata*. Fitoterapia. Pleura. Pulmão.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate macroscopically and histopathologically the changes occurred with the use of the aqueous extract of babassu (*Orbignya phalerata*) in the lung parenchyma and pleura of rats. **Method:** Sixty *Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*, var. Wistar, male, adults, with an average weight of 200 g, were randomized into two groups of 30 (experimental and control) and divided into sub-groups of 10 to be sacrificed on 48 and 72 hours and 21 days. The substance was injected into the right pleural animals. **Results:** There was intense pleuropulmonar macroscopic reaction with statistical significance between groups and at different times. Microscopically there was no statistic significant difference. **Conclusion:** The aqueous extract of babassu (*Orbignya phalerata*) appeared to be very irritating to the pleura and lung of mice, a fact recognized macroscopically through numerous adhesions and inflammation; paradoxically, microscopically showed no major changes.

**Key words:** Babassu. *Orbignya phalerata*. Phytotherapy. Pleura. Lung.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Distribuição dos grupos a serem estudados.....	17
FIGURA 2 – Dissecção do gradil costal.....	19
FIGURA 3 – Derrame pleural e pulmão encarcerado no 21° dia.....	20
FIGURA 4 – Retirada do gradil costal com a pleura.....	20
FIGURA 5 – Lâmina de pulmão corada com hematoxilina-eosina.....	23
FIGURA 6 – Comparação das variáveis: grau de reação, tipo de reação e macroscopia em relação aos grupos no 21° dia.....	27

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Teste de qui-quadrado das variáveis em relação aos grupos.....	25
TABELA 2 - Teste de Mann-Whitney das variáveis: grau de reação, tipo de reação e macroscopia em relação aos grupos nos períodos estudados.....	26
TABELA 3 - Teste de Kruskal-Wallis das variáveis: grau de reação, tipo de reação e macroscopia em relação aos períodos dentro de cada grupo.....	28

## SUMÁRIO

1	Introdução.....	11
2	Objetivo.....	12
3	Fundamentação Teórica.....	13
3.1	Cicatrização.....	13
3.2	Pleurodese.....	13
3.3	Babaçu.....	14
4	Metodologia da Pesquisa.....	16
4.1	Preparo do Extrato da <i>Orbignya phalerata</i> .....	17
4.2	Etapas Experimentais.....	18
4.3	Análise macroscópica.....	20
4.4	Estudo histopatológico.....	21
4.4.1	Preparo das peças.....	21
4.4.2	Análise microscópica.....	23
4.5	Análise estatística.....	23
5	Resultados.....	25
6	Discussão.....	29
7	Conclusão.....	31
	Referências.....	32

## 1. INTRODUÇÃO

A pleura pode ser o sítio de um grande número de doenças. Uma das consequências desse acometimento é o chamado derrame pleural, que consiste no acúmulo de líquido no espaço compreendido entre as pleuras parietal e visceral, acarretando na restrição da expansão pulmonar, diminuição da capacidade funcional e em sintomas como dispneia, dor e tosse (SAITO, 2006).

Ainda não se sabe qual seria o melhor tratamento a ser instituído quando esse derrame pleural ocorre de maneira recorrente, no entanto, admite-se que a pleurodese, seria uma medida paliativa eficiente em pacientes com doença maligna, sem resposta ao tratamento sistêmico (SAITO, 2006; VAZ 2006).

Vários estudos já foram realizados com o objetivo de descobrir a técnica e substância que proporcione a melhor maneira de manter a cavidade pleural livre com os menores efeitos colaterais possíveis. No entanto, cada método apresenta vantagens e algumas desvantagens, que algumas vezes não são toleradas pelo paciente (VAZ, 2006).

Por ser extremamente comum no meio-norte do Brasil e encontrada abundantemente no Estado do Maranhão, além de já ter mostrado ação cicatrizante e anti-inflamatória em outros trabalhos (BRITO FILHO, 2006), este estudo tem como objeto a investigação da *Orbignya phalerata* (babaçu), avaliando sua ação na pleura e no parênquima pulmonar de ratos.

O babaçu possui grande importância econômica e social no Maranhão, garantindo o sustento de famílias que extraem os frutos ou que trabalham nos centros de industrialização (ROCHA NETO, 1994). Também possui grande papel na medicina popular, sendo utilizado como cicatrizante e no tratamento de um grande número de doenças (BATISTA, 2006).

## **2 OBJETIVO**

Avaliar comparativamente as alterações macroscópicas e histopatológicas do extrato aquoso de babaçu (*Orbignya phalerata*) no parênquima pulmonar e pleura de ratos após 48 e 72 horas e 21 dias.

## **3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **3.1 CICATRIZAÇÃO**

A capacidade de reparação tecidual é uma das características que garantem a sobrevivência dos seres vivos (AMORIM, 2006). A cicatrização é um complexo processo físico, químico e biológico, que ocorre logo após a lesão tecidual, e permite a restituição da integridade anatômica e funcional do tecido lesado (BATISTA, 2006; BRITO FILHO, 2006).

A compreensão e a otimização do processo de cicatrização vêm desafiando os cirurgiões ao longo dos séculos, modificando suas atitudes e gerando diferentes linhas de pesquisa, em busca de um melhor entendimento sobre sua fisiopatologia, assim como drogas e substâncias químicas que possam proporcionar melhores resultados cicatriciais (BRITO FILHO, 2006; FERREIRA, 2006).

### **3.2 PLEURODESE**

A pleura pode ser atingida por inúmeras doenças, frequentemente evoluindo com derrame pleural, sendo comum que este seja recorrente e, quase sempre, sintomático (SAITO, 2006).

O derrame pleural maligno recidivante compromete a qualidade de vida do paciente, por ser responsável por sintomas desagradáveis, como dispneia, ortopnéia, tosse e dor pleurítica, restringindo suas atividades rotineiras e levando-o ao hospital frequentemente (TERRA, 2008).

O tratamento com a pleurodese nesses pacientes tem objetivo essencialmente paliativo, ou seja, não objetiva mudar o curso da doença oncológica nem prolongar a sobrevida do doente, visa o desaparecimento da coleção líquida e a manutenção da cavidade pleural livre, melhorando assim sua qualidade de vida através do alívio dos sintomas e aumento da capacidade funcional (TERRA, 2008; VAZ, 2006).

A pleurodese é uma das intervenções mais utilizadas para o derrame pleural sintomático recorrente e é caracterizado pelo colapamento dos folhetos parietal e visceral da pleura, produzindo a sínfise do espaço pleural e impedindo o acúmulo de líquidos (SAITO, 2006; VAZ, 2006).

Segundo Vaz (2006), “a pleurodese pode ser obtida utilizando-se vários estímulos indutores, que podem ser consequentes à lesão física direta (abrasão), química (instilação de substâncias cáusticas ou irritativas no espaço pleural: talco, doxiciclina, nitrato de prata e bleomicina), ou por indução imunológica (*Corynebacterium parvum*, TGF-beta ou interferon2-alfa)”.

Ainda não foram encontrados o método e a substância ideais para a indução da pleurodese, no entanto, inúmeros estudos investigam técnicas e substâncias que otimizem a aderência entre as pleuras, causando os menores efeitos colaterais (SAITO, 2006).

### **3.3 BABAÇU**

O uso de plantas com finalidade terapêutica data dos primórdios da civilização e a maior parte das informações provém de forma hereditária e empírica. Por isso, nas últimas décadas, estudos têm sido realizados para atestar a eficácia dessas substâncias e investigar seus efeitos colaterais baseados numa metodologia científica adequada (FERREIRA, 2006).

Entre os fitoterápicos, destaca-se o babaçu, uma palmeira da espécie *Orbignya phalerata*, nativa do meio-norte brasileiro, encontrada nos estados do Maranhão, Piauí, Tocantins e Mato Grosso. No Maranhão estão 54,2% das palmeiras, distribuídas de forma descontínua em 10 milhões de hectares de babaçuais (BATISTA, 2006; FERREIRA, 2006).

O babaçu é constituído por quatro partes: epicarpo, mesocarpo, endocarpo e amêndoas ou sementes. O mesocarpo é a parte mais utilizada, sendo dele extraído o pó, que já foi objeto de vários estudos pela sua ação anti-inflamatória e analgésica (BATISTA, 2006; FERREIRA, 2006). No uso popular, a farinha de babaçu tem sido utilizada como alimento e também como anti-inflamatório no tratamento de feridas crônicas (BALDEZ, 2006; BRITO FILHO, 2006).

Ensaio farmacológico com mesocarpo do babaçu comprovaram potente ação anti-inflamatória em vários modelos experimentais de inflamação.

Um estudo sobre o efeito do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* na cicatrização do estômago de ratos na dose de 50 mg/kg de peso por via intraperitoneal foi capaz de favorecer completa coaptação das bordas da cicatriz gástrica (BATISTA, 2006).

Analisando a cicatrização da bexiga com uso do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* em ratos, observou-se o efeito favorecedor em nível microscópico na cicatrização das feridas provocadas em ratos (FERREIRA, 2006).

O trabalho que analisou a cicatrização da pele com uso intraperitoneal de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* observou a ação estimulante da cicatrização em pele de ratos tanto na avaliação microscópica quanto macroscópica (MARTINS, 2006).

Estudando o efeito do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* na cicatrização de linha alba, concluiu-se que o extrato aquoso intraperitoneal, favorece a cicatrização (BRITO FILHO, 2006).

O estudo do efeito do uso tópico do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* na cicatrização de feridas cutâneas em rato, concluiu a contribuição favoravelmente para o processo de cicatrização tanto no nível macroscópico quanto microscópico, principalmente na primeira fase da cicatrização onde foi mais evidente (AMORIM, 2006).

#### 4 METODOLOGIA DA PESQUISA

Trata-se de um estudo experimental, prospectivo e randomizado, sendo sua exequibilidade baseada nos seguintes critérios: animal de fácil criação e manutenção, técnica anestésica de baixo custo, baixo risco e indolor, técnica cirúrgica pouco invasiva e pós-operatório que não necessite de cuidados especiais.

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Cirurgia Experimental do Maranhão, São Luís – MA, e no Laboratório de Patologia do Hospital Universitário Presidente Dutra (HU-UFMA). Foram obedecidas a Lei Federal nº 6.638 (1979) da Legislação Brasileira de Animais de Experimentação e as orientações para experimentação em animais preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA – Resolução 592, 1992).

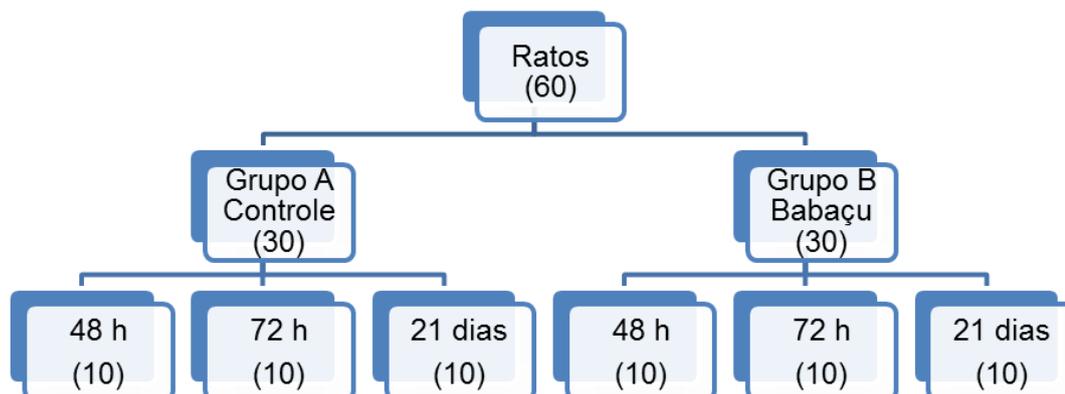
O projeto da pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Presidente Dutra da Universidade Federal do Maranhão, sob parecer CEUA 23115.017952/2013-01.

Foram utilizados 60 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), da linhagem Wistar, machos, adultos, pesando aproximadamente 200 gramas, oriundos do Biotério da UFMA. Os animais foram tratados e acomodados em gaiolas individuais, tipo gaveta, de tela aramada, inoxidável, com malha de 10 mm, medindo 23x20x25 cm, com fundo protegido por tela quadriculada de 10x10 mm, com comedor em aço inoxidável, bebedor de polipropileno de 250 ml, rolha de borracha antiácida e bico de aço inoxidável.

As gaiolas foram alojadas em ambiente dotado de controle de intensidade e duração da luminosidade, temperatura, ventilação, ruídos e odor, recebendo água e ração livremente, a fim de proporcionar condições sanitárias adequadas, além de conforto e bem-estar aos animais.

Caso algum animal adoecesse ou sofresse algum ferimento, foi garantida a disponibilidade de cuidados veterinários para o mesmo. Aqueles que não tivessem mais condições de participar do experimento, mesmo após tratamento, seriam utilizados para fins didáticos, ou, quando necessário, submetidos à morte de forma rápida, indolor e irreversível, pela técnica de sobredosagem anestésica (o quádruplo da dose padrão de ketamina e xilazina).

Foram distribuídos em dois grupos de 30 animais (FIGURA 1): grupo controle (tratado com soro fisiológico a 0,9%) e grupo experimento (tratado com extrato aquoso de mesocarpo de babaçu).



**FIGURA 1** - Distribuição dos grupos a serem estudados

Este estudo tem por finalidade analisar os dados dos animais submetidos à morte no 21º dia após a injeção das substâncias.

#### **4.1 PREPARO DO EXTRATO DA *Orbignya phalerata***

O extrato aquoso de mesocarpo da *Orbignya phalerata* (babaçu) foi obtido no laboratório da Universidade Federal do Maranhão e o soro fisiológico em concentração de 0,9% com conteúdo eletrolítico de cloreto de sódio a 154 mEq/l obtido comercialmente.

Para o preparo do extrato aquoso, o pó foi pesado e diluído em água destilada para uma concentração de 25 mg/ml (10 g/400 ml água destilada) e a dose utilizada foi 50 mg/kg.

## 4.2 ETAPAS EXPERIMENTAIS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cirurgia Experimental do Maranhão. Os ratos foram alojados em gaiolas para cinco animais e pesados. Foram mantidos em ciclos dia e noite em condições de temperatura, iluminação, aeração e umidade ambientais, durante sete dias para adaptação, recebendo ração padrão para ratos (Purina<sup>®</sup> Labina) e água *ad libitum*.

Antes do experimento propriamente dito, foi realizado projeto piloto com três animais para orientar o trajeto percorrido pela agulha, verificando a possibilidade de lesão do parênquima pulmonar ou estrutura adjacente pela punção e determinar a melhor técnica para retirada do pulmão direito e parede torácica para a realização da biópsia.

O procedimento anestésico foi realizado com cloridrato de ketamina 5%, na dose de 60 ml/kg de peso, associada a cloridrato de xilazina 2%, na dose de 10 ml/kg de peso. A anestesia foi realizada por via intramuscular, na face posterior da coxa esquerda.

Os animais, após serem identificados e anestesiados, foram imobilizados em decúbito dorsal horizontal, por meio de esparadrapos fixados aos quatro membros nas extremidades da prancha. Após epilação e antissepsia com polivinilpirrolidona-iodo da região xifoidiana, uma agulha de anestesia peridural (BD12F), numa angulação de aproximadamente 30°, foi introduzida na região subxifóide, no ângulo de Sharpy, por via transdiafragmática, na cavidade pleural à direita, seguida da injeção do soro fisiológico ou do extrato aquoso de babaçu, de acordo com o grupo e peso do animal.

Ao final do procedimento, os animais foram recondicionados às suas respectivas gaiolas, identificadas com o dia e o grupo de tratamento instituído. Os animais foram submetidos a condições idênticas as do período pré-operatório, recebendo ração padrão para ratos e água *ad libitum* e avaliados diariamente, anotando-se as intercorrências.

Os animais foram divididos em 3 subgrupos, com morte programada para 48 e 72 horas e 21 dias, após a injeção da substância selecionada. A técnica escolhida foi a sobredosagem anestésica (aproximadamente o quádruplo da dose usada para a anestesia), por ser rápida, indolor e irreversível. O foco desse trabalho foi a análise no 21º dia.

A seguir realizou-se a epilação da região anterior do tórax e antissepsia com polivinilpirrolidona-iodo, e realizou-se uma incisão longitudinal mediana de 4 cm a partir da fúrcula esternal até o apêndice xifoide, comprometendo pele e plano músculo aponeurótico, seguido da abertura da cavidade pleural (FIGURA 2). Prosseguiu-se com o inventário da cavidade torácica (FIGURA 3), observando-se as alterações macroscópicas, as quais foram classificadas em graus (0, 1, 2, 3 e 4), e a retirada de amostra do gradil costal com a pleura e fragmento do pulmão direito (FIGURA 4).



**FIGURA 2** - Dissecção do gradil costal



**FIGURA 3** - Derrame pleural e pulmão encarcerado no 21º dia



**FIGURA 4** - Retirada do gradil costal com a pleura

#### **4.3 ANÁLISE MACROSCÓPICA**

A avaliação macroscópica foi classificada de acordo com os seguintes graus:

- Grau 0: Nenhuma alteração macroscópica

- Grau 1: Presença de exsudato, sem reação fibrina e/ou aderências
- Grau 2: Presença de exsudato, com reação fibrina leve e aderências tênues
- Grau 3: Presença de exsudato, com reação fibrina moderada e aderências moderadas
- Grau 4: Ausência de exsudato, pulmão encarcerado pela intensa reação fibrina e inúmeras aderências.

#### **4.4 ESTUDO HISTOPATOLÓGICO**

##### **4.4.1 PREPARO DAS PEÇAS**

O preparo e análise das peças foram realizados no Laboratório de Patologia do Hospital Universitário Presidente Dutra (HU-UFMA).

A técnica utilizada para a preparo das lâminas foi a coloração por hematoxilina-eosina, seguindo as seguintes etapas:

##### **- CLIVAGEM**

O pulmão direito ressecado foi clivado em 2 a 3 peças e a pleura parietal não, devido já seu tamanho reduzido.

##### **- HISTOTÉCNICO**

Em seguida, todas as peças clivadas passaram pela sequência de substâncias abaixo para fixar, desidratar e clarificar:

- Formol Tamponado a 10%
- Álcool (da menor concentração até álcool absoluto)
- Xilol
- Parafina

##### **- INCLUSÃO EM PARAFINA**

As peças já preparadas pelo histotécnico foram incluídas em blocos de parafina, para depois de congelados e endurecidos, serem cortadas em faixas finas no micrótomo. Tais faixas foram abertas em “banho-maria” e em seguida incluídas na lâmina e levadas à estufa para secar.

## **- COLORAÇÃO**

Após a fixação do tecido em parafina cortado, aderido à lâmina e totalmente desparafinado e hidratado, o mesmo foi submetido às técnicas de Verhoeff, picrossírius e hematoxilina-eosina.

## **- MONTAGEM DAS LÂMINAS**

Foram montadas com entellan e lamínula.

## **- IMUNOHISTOQUÍMICA**

**Desparafinação:** Realizada à temperatura ambiente com 3 trocas de xilol (5 minutos cada) seguida de hidratação dos cortes em passagens em álcoois em concentrações decrescentes (álcool 100 °, 95°, 70° até a lavagem em água).

A seguir, realizou-se o bloqueio da peroxidase endógena com 2 incubações de 15 minutos cada, em banho-maria a 37 °C com peróxido de hidrogênio a 3% em tampão PBS, pH 7.4. Após isso, as lâminas foram lavadas em 3 trocas de tampão PBS com Tween 20.

A seguir, as lâminas foram incubadas a temperatura de 37 °C, com 150 a 200 µl, dependendo do tamanho da amostra em anticorpo primário policlonal Anti S100 (DAKO, EEUU) na diluição 1/3000 em solução redutora de background (DAKO, EEUU).

Para a detecção da reação antígeno-anticorpo utilizou-se um sistema universal estreptavidina biotina de alta sensibilidade, conforme as orientações do fabricante (Zymed, EEUU).

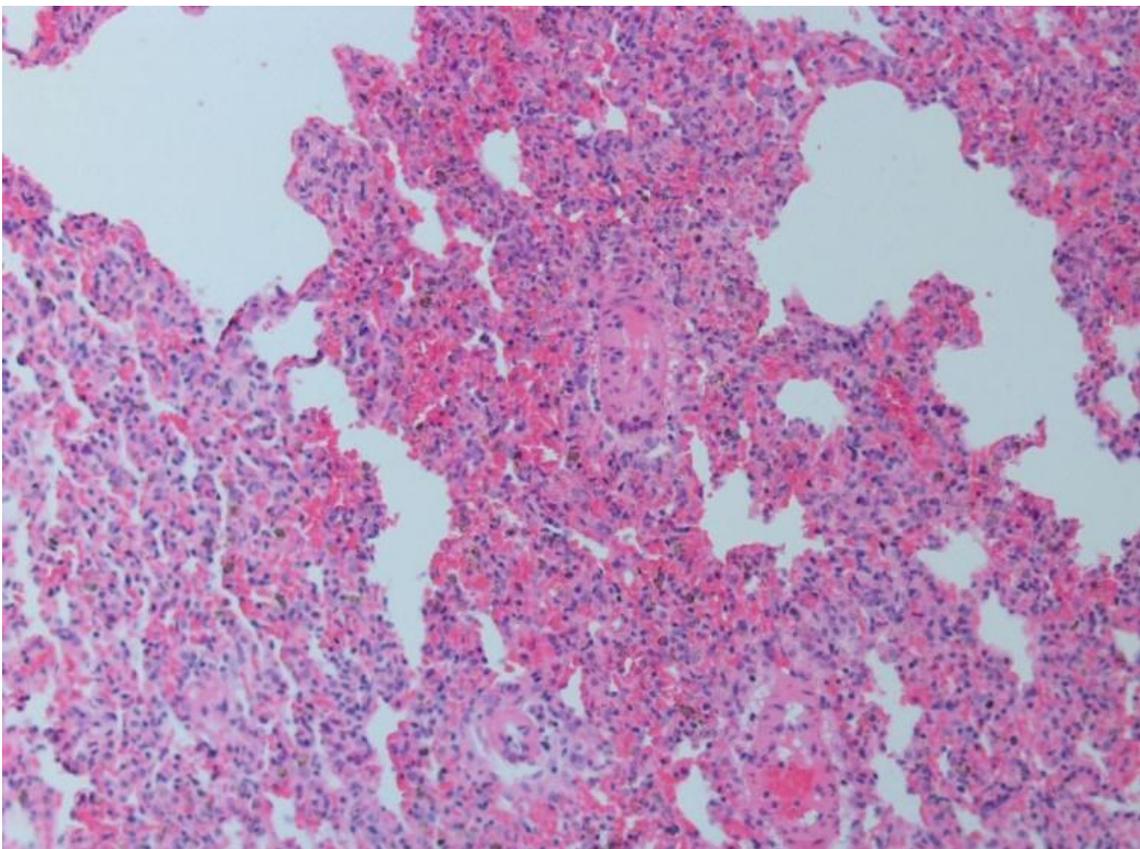
Para a visualização do imunocomplexo as lâminas foram submetidas à reação de imunoperoxidase e colocadas de 1 a 5 minutos, a temperatura ambiente em uma solução de 3,3'-diaminobenzidina (DAB) (DAKO, EEUU) e depois contra

coradas com hematoxilina de Harris e montadas com lamínulas com a resina sintética entellan (Merk, Alemanha).

#### 4.4.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA

Após o preparo, as lâminas foram analisadas microscopicamente com o auxílio de um colaborador patologista.

As alterações microscópicas tiveram duas classificações: uma referente ao grau de reação inflamatória e outra com relação ao tipo de reação, se aguda ou crônica (FIGURA 5).



**FIGURA 5** – Lâmina de pulmão corada com hematoxilina-eosina, com aumento de 200x, mostrando hemorragia recente e antiga e espessamento septal infiltrado inflamatório crônico

**- Grau de reação:**

Grau 0 – Nenhuma alteração microscópica

Grau 1 – Reação inflamatória leve

Grau 2 – Reação inflamatória moderada

Grau 3 – Reação inflamatória intensa

**- Tipo de reação:**

A – Aguda

C – Crônica

#### **4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados macroscópicos e microscópicos foram avaliados através da análise de dados categorizados pelo teste da razão da máxima verossimilhança, com o objetivo de avaliar a existência de associação entre as substâncias e o tipo de alteração provocada por elas, no nível de significância de 5%, isto é, se o p-valor do teste estatístico for menor que 0,05 existe diferença significativa no grau de alteração entre as substâncias consideradas.

Para a análise da variável espessura da pleura foi considerado o delineamento em parcela subdividida no tempo, na técnica não paramétrica e comparações múltiplas. O nível de significância adotado também foi 5%.

## 5 RESULTADOS

As variáveis grau de reação, tipo de reação e pneumonite não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos, mas a análise macroscópica apresentou-a ( $p < 0,05$ , TABELA 1), sendo que o grupo babaçu teve 73,3% de algum grau de alteração macroscópica, enquanto que o controle em 90% das vezes não ocorreu alteração alguma.

**TABELA 1** - Teste de qui-quadrado das variáveis em relação aos grupos

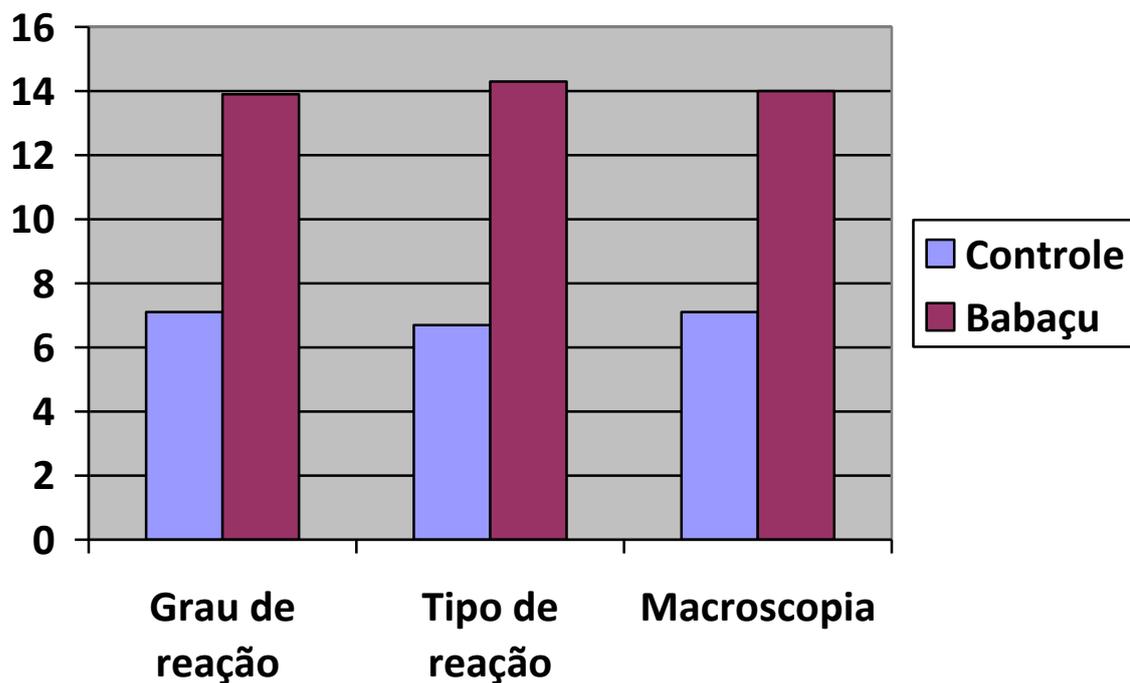
Variável	Grupo				Total	p
	Controle	%	Babaçu	%		
<b>Grau de reação</b>						
Grau 0	19	63.3	12	40.0	31	0.074
Grau 1	11	36.7	15	50.0	26	
Grau 2	0	0.0	3	10.0	3	
<b>Tipo de reação</b>						
Ausente	19	63.3	12	40.0	31	0.059
Aguda (A)	7	23.3	6	20.0	13	
Crônica (B)	4	13.3	12	40.0	16	
<b>Pneumonite</b>						
Sim	5	16.7	11	36.7	16	0.080
Não	25	83.3	19	63.3	44	
<b>Macroscopia</b>						
Grau 0	27	90.0	8	26.7	35	0.000
Grau 1	1	3.3	9	30.0	10	
Grau 2	0	0.0	3	10.0	3	
Grau 3	0	0.0	2	6.7	2	
Grau 4	2	6.7	8	26.7	10	
Total	30	100.0	30	100.0	60	

Após o 21º dia da intervenção houve efeito significativo danoso ( $p < 0,05$ ) do babaçu nas três variáveis (Tabela 2, Figura 6).

**TABELA 2** - Teste de Mann-Whitney das variáveis: grau de reação, tipo de reação e macroscopia em relação aos grupos nos períodos estudados

Período	Variável	Grupo	Posto médio	Mediana	P
48 h	Grau de reação	Controle	26.5	Grau 0/1	0.830
		Babaçu	34.6	Grau 0	
	Tipo de reação	Controle	26.0	Ausente/Aguda (A)	0.702
		Babaçu	35.0	Ausente	
	Macroscopia	Controle	21.3	Grau 0	0.045
		Babaçu	39.8	Grau 1	
72 h	Grau de reação	Controle	9.5	Grau 0	0.342
		Babaçu	11.5	Grau 0	
	Tipo de reação	Controle	9.5	Ausente	0.335
		Babaçu	11.5	Ausente	
	Macroscopia	Controle	6.9	Grau 0	0.002
		Babaçu	14.2	Grau 1	
21 dias	Grau de reação	Controle	7.1	Grau 0	0.003
		Babaçu	13.9	Grau 1	
	Tipo de reação	Controle	6.7	Ausente	0.001
		Babaçu	14.3	Crônica (C)	
	Macroscopia	Controle	7.1	Grau 0	0.003
		Babaçu	14.0	Grau 4	

\*  $p < 0,05$



**FIGURA 6** – Comparação das variáveis: grau de reação (GR), tipo de reação (TR) e macroscopia (MA) em relação aos grupos no 21º dia

Não foi encontrada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os 3 momentos dentro do grupo controle, mas dentro do babaçu houve diferença significativa danosa ( $p < 0,05$ ) entre as medianas dos períodos para as três variáveis. A principal diferença encontra-se entre o 21º dia com os demais períodos (Tabela 3).

**TABELA 3** - Teste de Kruskal-Wallis das variáveis: grau de reação, tipo de reação e macroscopia em relação aos períodos dentro de cada grupo

	Variável	Período	Posto médio	Mediana	P
<b>Controle</b>	Grau de reação	48 h	17.5	Grau 0/1	0.379
		72 h	13.0	Grau 0	
		21 dias	16.0	Grau 0	
	Tipo de reação	48 h	17.1	Ausente/Aguda (A)	0.470
		72 h	13.2	Ausente	
		21 dias	16.3	Ausente	
	Macroscopia	48 h	15.6	Grau 0	0.996
		72 h	15.4	Grau 0	
		21 dias	15.6	Grau 0	
<b>Babaçu</b>	Grau de reação	48 h	12.8	Grau 0	0.008
		72 h	11.9	Grau 0	
		21 dias	21.8	Grau 1	
	Tipo de reação	48 h	11.0	Ausente	0.001
		72 h	11.9	Ausente	
		21 dias	23.6	Crônica (C)	
	Macroscopia	48 h	11.6	Grau 1	0.019
		72 h	13.4	Grau 1	
		21 dias	21.6	Grau 4	

## 6 DISCUSSÃO

O procedimento cirúrgico ocorreu eficientemente e todos os animais permaneceram vivos durante o ato da injeção das substâncias sem nenhuma complicação cirúrgica peri-operatória ou anestésica.

Pelo grande impacto na qualidade de vida causado pelos sintomas do derrame pleural maligno recidivante, e pela discussão sobre as técnicas e substâncias mais adequadas para o seu tratamento, justifica-se a realização desse estudo.

A linhagem Wistar foi utilizada por já ter sido padronizada anteriormente em outros estudos, e mostrou-se eficiente já que não houve complicações pós-operatórias.

O procedimento anestésico escolhido foi seguro, não tendo havido óbitos durante a anestesia ou recuperação anestésica.

O extrato do mesocarpo de *Orbignya phalerata* foi o fitoterápico escolhido por ter mostrado atividade anti-inflamatória e imunomoduladora em estudos anteriores e por ser amplamente disponível no meio-norte brasileiro. A dose de 50 mg/kg baseou-se em trabalhos farmacológicos já realizados. O veículo aquoso do extrato foi o preconizado devido ao efeito tóxico ao sistema nervoso central pelo meio alcoólico.

Os animais apresentaram pós-operatório sem complicações, não havendo nenhum óbito até o final do experimento, refletindo a segurança do método empregado.

A análise macroscópica apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ), sendo que o grupo babaçu teve 73,3% de algum grau de alteração macroscópica enquanto que o grupo controle não apresentou alterações significativas.

Nos grupos experimento e controle no período de 21 dias, ocorreram alterações inflamatórias moderadas. De um modo geral, houve efeito significativo positivo do babaçu na análise macroscópica.

Neste estudo foi utilizada uma substância natural conhecida popular e cientificamente por suas ações anti-inflamatórias e cicatrizantes.

Um fator que muito influenciou o uso do babaçu foi à facilidade de obtenção, aplicabilidade nos animais, baixo custo e experiência no refino por parte dos funcionários da universidade.

Neste trabalho, observou-se também que o extrato aquoso de *Orbignya phalerata* na dose que foi usada, não apresentou nenhuma reação adversa.

Não foi encontrado na literatura pertinente nenhum estudo experimental usando *Orbignya phalerata* na pleura e parênquima pulmonar de ratos.

Os estudos anteriormente realizados na cicatrização do estômago e bexiga com o uso intraperitoneal de extrato aquoso da substância mostraram ação estimulante na cicatrização macro e microscópica. Levando-se em consideração que a serosa abdominal assemelha-se histologicamente à da pleura, as reações observadas também foram semelhantes.

As variáveis grau de reação, tipo de reação e pneumonite, não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos, mas a análise macroscópica apresentou, sendo que o grupo babaçu teve 73,3% de algum grau de alteração macroscópica enquanto que o grupo controle não apresentou alterações.

Existem muitos trabalhos relatados na literatura com uso de variadas substâncias obtendo êxito na pleurodese, no entanto, essas substâncias já são de uso conhecido na medicina, como talco, povidine, OK-432, citocina, e nenhum estudo com uso de plantas medicinais.

## 6 CONCLUSÃO

O extrato aquoso de babaçu (*Orbignya phalerata*) revelou ser muito irritante para a pleura e parênquima pulmonar de ratos, fato este reconhecido macroscopicamente através de inúmeras aderências, paradoxalmente, microscopicamente não apresentou maiores alterações.

## REFERÊNCIAS

- AMORIM, E. ; MATIAS, J. E. F.; COELHO, J. C. U. et al. **Efeito do uso tópico do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização de feridas cutâneas – estudo controlado em ratos.** Acta Cirúrgica Brasileira, 2006, sup. 2, p. 67-76.
- BALDEZ, R. N.; MALAFAIA, O.; CZECZKO, N. G. et al. **Análise da cicatrização do cólon com uso do extrato aquoso da *Orbignya phalerata* (babaçu) em ratos.** Acta Cirúrgica Brasileira, 2006, sup. 2, p. 31-38.
- BATISTA, C. P.; TORRES, O. J. M.; MATIAS, J. E. F. et al. **Efeito do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização do estômago em ratos: estudo morfológico e tensiométrico.** Acta Cirúrgica Brasileira, 2006, v. 21, supl. 3, p. 26-32.
- BRITO FILHO, S. B.; MATIAS, J. E. F.; STAHLKE JUNIOR, H. J. et al. **Análise da cicatrização na linha alba com uso de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu). Estudo controlado em ratos.** Acta Cirúrgica Brasileira, 2006, v. 21, supl. 3, p. 76-88.
- FERREIRA, E. C. F.; MATIAS, J. E. F.; CAMPOS, A. C. L. et al. **Análise da cicatrização da bexiga com uso do extrato aquoso da *Orbignya phalerata* (babaçu). Estudo controlado em ratos.** Acta Cirúrgica Brasileira, 2006, v. 21, supl. 3, p. 33-39.
- MARTINS, N. L. P.; MALAFAIA O.; RIBAS-FILHO, J. M. **Análise comparativa da cicatrização da pele com o uso intraperitoneal de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu). Estudo controlado em ratos.** Acta Cirúrgica Brasileira. 2006; 21 (3): 67.
- ROCHA NETO, P. D. **O mito do babaçu: a esfinge da indústria maranhense.** Desenv. & Cidad. 1994, (10): 22-30.
- SAITO, E. H.; NUNES, R. A.; HIGA, C. **Pleurodese.** Pulmão RJ, 2006, v.15, p. 110-116.
- TERRA, R. M. **Análise dos resultados clínicos e radiológicos de dois métodos de pleurodese com talco em pacientes com derrame pleural maligno recidivante.** 2008, 123 f. Tese. (Doutorado em Ciências)
- VAZ, M. C.; MARCHI, E.; VARGAS, F. C. **Pleurodese: técnicas e indicações.** Jornal Brasileiro de Pneumologia, 2006, v. 32, p. 347-356.