

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE**

LILHIAN ALVES DE ARAÚJO

**EFEITOS DO TRATAMENTO TÓPICO COM O LÁTEX DA *EUPHORBIA*
TIRUCALLI NA SOBREVIDA DE RATOS COM PERITONITE
EXPERIMENTAL**

**Goiânia
2013**



LILHIAN ALVES DE ARAÚJO

**EFEITOS DO TRATAMENTO TÓPICO COM O LÁTEX DA *EUPHORBIA*
TIRUCALLI NA SOBREVIVÊNCIA DE RATOS COM PERITONITE
EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós - graduação Stricto-sensu, Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde pela PUC- Goiás, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis

**Goiânia
2013**

Dados Internacionais de Catalogação da Publicação (CIP)
(Sistema de Bibliotecas PUC Goiás)

Araújo, Lilhian Alves de.

A663e Efeitos do tratamento tópico com o látex da *Euphorbia tirucalli* na sobrevida de ratos com peritonite experimental [manuscrito] / Lilhian Alves de Araújo. – 2013.

39 f.; il. grafs.; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde, Goiânia, 2013.

“Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis”.

1. Peritonite. 2. Látex. 3. Euforbiácea. 4. Sobrevida. I. Reis, Paulo Roberto de Melo. II. Título.

CDU: 616.381-002(043)

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais Paulo e Meire pelo apoio e
compreensão durante toda a trajetória;
Ao meu amigo Anderson pelo carinho e
colaboração.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** pela saúde, resignação e paciência a mim concedida durante todos os momentos de minha vida;

Ao Professor **Dr. Paulo Roberto de Melo Reis** pela orientação e motivação em estudar a *Euphorbia tirucalli*;

À ***Euphorbia tirucalli***, ou simplesmente, avelós por sua fundamental participação nesta pesquisa;

Ao meu amigo **Diego** pelo apoio e contribuições;

À **CAPES**, pela concessão da bolsa de mestrado e apoio financeiro para realização desta pesquisa.

RESUMO

ARAÚJO, L. A. **Efeitos do tratamento tópico com o látex da *Euphorbia tirucalli* na sobrevida de ratos com peritonite experimental.** 2013. 39f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2013.

O uso de plantas da família Euphorbiaceae, principalmente a *Euphorbia tirucalli*, tem sido popularmente difundido para o tratamento de uma variedade de doenças de natureza infecciosa, tumoral e inflamatória. Tendo em vista a utilização popular da *E. tirucalli* no tratamento de doenças e, pesquisas que demonstram efeitos antimicrobianos e imunomoduladores, este estudo avaliou o efeito da lavagem peritoneal com a solução aquosa do látex da *E. tirucalli* na sobrevida de ratos com peritonite experimental fecal. Para tal, foi induzido peritonite fecal em 24 ratos Wistar e divididos aleatoriamente em quatro grupos de 6 animais, assim distribuídos: 1- controle, nenhum tratamento; 2- tratamento com dose única intramuscular de Unasyn® (antibiótico) 30mg; 3- lavagem da cavidade abdominal com solução fisiológica 0,9%; 4- lavagem da cavidade abdominal com *E. tirucalli* na concentração de 12mg/mL. Os animais que faleceram foram necropsiados e horário do óbito anotado. Os sobreviventes foram eutanasiados no 11^o de pós-operatório e, posteriormente, realizou-se a necropsia. Os resultados demonstraram que os grupos 1 e 3; 1 e 4; 2 e 3; 2 e 4 obtiveram diferença significativa ($p < 0,01$) com relação às horas de vida. O tratamento com a lavagem de solução fisiológica e com a *E. tirucalli* levaram os animais a sobreviverem pelo mesmo período, sem nenhum óbito no grupo tratado com o látex até o período avaliado.

Palavras- chave: Peritonite. Látex. *Euphorbia tirucalli*. Sobrevida

ABSTRACT

ARAÚJO, L. A. **Effects of topical treatment with the *Euphorbia tirucalli* in the survival of rats with experimental peritonitis.** 2013. 39p. Dissertation (Environmental Science and Health Pontifical Catholic University of Goiás) - Goiânia. 2013.

The use of plants of the family Euphorbiaceae, particularly *Euphorbia tirucalli* has been popularly widespread for treating a variety of diseases of infectious, tumoral, and inflammatory. Considering the popular use of *E. tirucalli* in the treatment of diseases and research demonstrating antimicrobial and immunomodulating effects, this study evaluated the effect of peritoneal lavage with the aqueous latex *E. tirucalli* on the survival of rats with fecal experimental peritonitis. For this purpose, fecal peritonitis was induced in 24 Wistar rats and were divided randomly into four groups of six animals, as follow: 1- control, no treatment; 2- treatment with a single dose of intramuscular Unasyn (antibiotic) 30mg, 3- wash the abdominal cavity with saline solution 0.9%; 4- wash the abdominal cavity with *E. tirucalli* concentration of 12mg/mL. Animals that died were necropsied and the time of death noted. The survivors were mercy killing on the 11th postoperative and later necropsy was performed. The results showed that the groups 1 and 3, 1 and 4, 2 and 3; 2 and 4 exhibited significant differences ($p < 0.01$) in relation to hours of life. The treatment with the washing of saline solution and the *E. tirucalli* has made surviving the animals for the same period, no deaths in the group treated with latex in the period.

Keywords: Peritonitis. Latex. *Euphorbia tirucalli*. Survival

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Injeção de solução de fezes recém defecadas na cavidade peritoneal do rato.....11**
- Figura 2- Lavagem abdominal (seta branca), sutura (seta preta), recuperação anestésica em estufa (seta vermelha).....13**
- Figura 3- Punção para coleta de sangue na veia caudal.....15**
- Figura 4- Teste Tukey para a análise laboratorial de monócitos entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e E.T 12mg/ mL (4).....17**
- Figura 5- Teste Tukey para a análise laboratorial de eosinófilos entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e E.T 12mg/ mL (4).....18**
- Figura 6- Teste Tukey da sobrevida entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e E.T 12mg/ mL (4).....19**
- Figura 7- Sobrevida em horas dos grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e E.T 12mg/mL (4).....20**
- Figura 8- Dilatação enterocolônica (seta branca), fibrina (seta preta), líquido peritoneal turvo (seta vermelha) e pontos hemorrágicos na cavidade abdominal (seta amarela) nos animais dos grupos 1 e 2.....20**
- Figura 9- Aderência em parede abdominal (seta branca) e aderência entre alças intestinais (seta vermelha) nos animais dos grupos 3 e 4.....21**
- Figura 10- Ferida operatória em animais do grupo 3 com secreção purulenta (seta branca), e ferida operatória em animais do grupo 4 (seta vermelha).....22**

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Estatística descritiva das análises laboratoriais, entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e E.T 12mg/ mL (4).....16**
- Tabela 2- Análise de Variância das análises laboratoriais, entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e E.T 12mg/ mL (4).....17**
- Tabela 3- Análise de Variância da sobrevida (horas de vida), entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e E.T 12mg/ mL (4).....18**
- Tabela 4- Classificação em graus de aderências peritoneais entre os seis indivíduos dentro dos grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e E.T 12mg/ mL (4).....21**

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1	O estudo de plantas medicinais.....	3
2.2	A família Euphorbiaceae.....	4
2.3	O gênero <i>Euphorbia</i>	5
2.4	A espécie <i>Euphorbia tirucalli</i>	5
2.4.1	Constituintes químicos do látex da <i>E. Tirucalli</i>	6
2.4.2	Atividade biológicas descritas na literatura da <i>E. tirucalli</i>	7
2.5	Peritonite.....	7
3	OBJETIVO.....	9
3.1	Objetivo geral.....	9
3.2	Objetivos específicos.....	9
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	10
4.1	Material.....	10
4.1.1	Animais para experimentação.....	10
4.1.2	Certificação botânica da <i>Euphorbia tirucalli</i>	10
4.2	Metodologias utilizadas.....	11
4.2.1	Estudo piloto.....	11
4.2.2	Procedimento experimental.....	12
4.2.3	Coleta de sangue para exames laboratoriais.....	14
4.2.4	Contagem de leucócitos.....	15
4.2.5	Análise estatística.....	15
5	RESULTADOS.....	16
5.1	Análises laboratoriais.....	16
5.2	Avaliação da sobrevida.....	18
5.3	Avaliação das necropsias.....	20
6	DISCUSSÃO.....	23
6.1	Da análise laboratorial.....	23
6.2	Da sobrevida e necropsias.....	25
7	CONCLUSÃO.....	29
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	30
	REFERÊNCIAS.....	31
	ANEXOS.....	39

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais, incluindo os extratos de uso popular como recurso terapêutico, é uma tendência generalizada na população brasileira. Esta tendência tem contribuído significativamente para o consumo não somente de plantas medicinais como também de fitoterápicos (GURIB, 2006).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera que, no mundo, aproximadamente 80% da população depende principalmente da medicina tradicional para seus cuidados primários de saúde (FARNSWORTH, 1985). No Brasil, a biodiversidade estimada em 120 mil espécies, favorece uma procura cada vez maior de recursos advindos da natureza, exercendo um papel importante na descoberta de novos fármacos para prevenção e tratamento de enfermidades (Gurib, 2006).

A *Euphorbia tirucalli*, da família Euphorbiaceae, é uma planta utilizada na medicina popular. Proveniente da África e trazida para o Brasil com fins ornamentais, é comumente conhecida como avelós, possui altura em torno de 1.20 a 6 metros, apresenta ramos jovens cilíndricos da espessura de um lápis e folhas pouco visíveis, que caem logo após surgirem. As flores são pequenas, raras e muitas vezes passam despercebidas. Produz um látex de coloração branca com constituintes irritantes, que podem causar em contato com a pele, lesões, prurido e queimaduras (SAPIÊNCIA, 2010).

Apesar de ser considerada uma planta tóxica, o gênero *Euphorbia* é amplamente utilizado pela medicina popular brasileira no tratamento de lesões, doenças infecciosas, tumores e doenças inflamatórias (ZHANG et al., 2008; YANG et al., 2005; UZAIR et al., 2009; AMIRGHOFAN et al., 2006; FERNANDEZ-ARCHE et al., 2010). Uma vez que o uso popular de plantas medicinais fornece evidências

de atividades biológicas, a investigação científica através de modelos experimentais adequados torna-se necessária na formulação de um novo fármaco, sendo possível desta forma, validar o uso terapêutico de plantas. (HEINRICH; GIBBONS, 2001).

Peritonite é doença grave, representa uma importante causa de sepse e óbito nas unidades de terapia intensiva e cirúrgica. Apesar de grandes avanços no seu tratamento, não houve nas duas últimas décadas diminuição da mortalidade por essa doença, sendo necessária a busca de novos recursos terapêuticos (SANDES et al., 1997; AGUIAR et al., 1996; KREIMER et al., 2005).

Tendo em vista a utilização popular da *E. tirucalli* no tratamento de doenças e pesquisas que demonstram efeitos antimicrobianos e imunomoduladores (VIEIRA; FRANÇA, 2011; PAREKH et al., 2005; FERNANDEZ-ARCHE et al., 2010; AVELAR et al., 2011) , este estudo pretende avaliar o efeito da lavagem peritoneal com a solução aquosa do látex da *E. tirucalli* na sobrevivência de ratos com peritonite experimental fecal.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. O estudo de plantas medicinais

O Brasil possui uma biodiversidade em sua flora com plantas nativas e exóticas estimadas em mais de 120 mil espécies, que lhe atribui um grande potencial para o desenvolvimento de fitoterápicos e outros fármacos a partir de insumos vegetais. As civilizações tradicionais brasileiras utilizam com frequência as plantas medicinais, conhecimento herdado dos seus antepassados, que vão sendo reinterpretados e adaptados à realidade atual, somados a elementos resultantes de diferentes influências (CAMARGO, 1985).

O conhecimento tradicional sobre as propriedades curativas de plantas medicinais contribui para a descoberta de novos fármacos e auxilia as práticas terapêuticas (SCHMIDT et al., 2008). Segundo a OMS, 80% da população mundial faz uso de plantas medicinais na atenção primária à saúde (OMS, 2002). Dos medicamentos utilizados em clínica médica, 25% tem sua origem vegetal (PHILLIPSON et al., 2007) e cerca de 60% dos fármacos com atividade antitumorais e antimicrobianas, já comercializados ou em fase de pesquisa clínica, sejam de origem natural (SHU, 1998).

O estímulo ao uso de fitoterápicos tem como objetivo prevenir, curar ou subtrair os sintomas das enfermidades, com um custo mais acessível às pessoas e aos serviços públicos de saúde, comparativamente àqueles sintetizados, que são, em geral, mais dispendiosos, devido às patentes tecnológicas envolvidas (TOLEDO et al., 2003). Temos como exemplo de fármacos, os quais dificilmente seriam obtidos sinteticamente, os alcalóides da *Papaver somniferum* e os glicosídeos cardiotônicos da *Digitalis* spp (ROBBERS et al., 1996).

Considerando o uso de plantas medicinais e a fitoterapia como práticas terapêuticas complementares à saúde em notável crescimento, em 2006, o governo federal brasileiro, buscando o fortalecimento do uso dos fitoterápicos na atenção básica da saúde, aprovou, junto ao Ministério da Saúde, a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos (PNPMF) que visa propor formas alternativas à terapêutica e incentivar o desenvolvimento comunitário, a solidariedade e a participação social na saúde (BRASIL, 2006).

Uma das diretrizes da PNPMF é incentivar grupos de pesquisa com atuação voltada para a farmacologia de plantas medicinais, tornando possível a validação do uso terapêutico de plantas bem como indicar parâmetros que indiquem a sistematização do seu uso (HEINRICH; GIBBONS, 2001).

2.2. A família Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae abrange plantas com cerca de 300 gêneros e 6000 espécies, distribuídas predominantemente em regiões tropicais. No Brasil, ocorrem cerca de 70 gêneros e 1000 espécies, tornando-a uma família facilmente encontrada na formação da flora brasileira e uma das mais complexas, do ponto de vista taxonômico. Entre suas principais características botânicas, destaca-se a presença de substâncias latexcentes, visíveis quando a planta é submetida às injúrias mecânicas (SOUZA; LORENZI, 2008).

A família Euphorbiaceae tem se destacado como de importância econômica, especialmente na alimentação humana, produção de látex e óleos, e ainda na medicina popular. A mandioca, *Manihot esculenta* é utilizada no nordeste brasileiro como fonte de amido, e a sua farinha é consumida em todo o país (CORRÊA et al., 2002). A seringueira, *Hevea brasiliensis*, de onde se extrai o látex utilizado para a

manufatura de borracha natural, é extensamente cultivada em alguns trechos da floresta amazônica (RIBEIRO, 2004). Nativa da África, e conhecida como mamona, a *Ricinus communis* é fonte do óleo de rícino usado medicinalmente e como lubrificante aplicado em propulsores de ônibus espaciais e foguetes (BELTRÃO, 2003).

2.3. O gênero *Euphorbia*

O gênero *Euphorbia* é o maior gênero da família Euphorbiaceae (SHLAMOVITZ et al., 2009). A *Euphorbia* é encontrada nos continentes africano, asiático e na América do Sul, apresentando diferentes aspectos morfológicos entre herbáceas, suculentas e arbustivas.

Várias espécies suculentas ou herbáceas são utilizadas para fins ornamentais como a *E. pulcherrima*, conhecida popularmente por estrela de natal, originária do México. A maioria das plantas do gênero *Euphorbia*, mais cultivadas para jardinagem são de origem mediterrânea, tornando-as plantas pouco exigentes, uma vez que crescem em solos degradados e pobres.

As plantas do gênero *Euphorbia* possuem vários componentes bioativos em suas constituições, tais como alcalóides, flavonóides, taninos e terpenos (PUSZTAI et al., 2007; ZHANG et al., 2008; WANG et al., 2006), sendo amplamente utilizadas na medicina popular, como exemplo, a *E. hirta* no tratamento de doenças respiratórias (SINGH et al., 2006).

2.4. A espécie *E. tirucalli*

A *E. tirucalli*, pertencente à família Euphorbiaceae, é uma planta utilizada na medicina popular. Proveniente da África e trazida para o Brasil com fins

ornamentais, é conhecida popularmente como pau-pelado, graveto-do-cão, árvore lápis ou avelós. Possui altura em torno de 2 a 6 metros, apresenta ramos jovens, cilíndricos e suculentos. As folhas e flores são pouco visíveis e raras (SAPIÊNCIA, 2010).

O avelós está incluído na lista de plantas tóxicas no Sistema Nacional de Informações Toxicológicas da Fiocruz, por produzir um látex branco, extremamente irritante para a pele e mucosas. Além disso, a ingestão do látex ou preparações com sua composição podem causar náuseas, vômitos, diarreia e hemorragia (CASEIRO et al., 2008).

Por outro lado, o avelós possui propriedades químicas como os hidrocarbonetos terpênicos e aldeídos que são utilizados dentro da alopatia. Dentre suas propriedades terapêuticas estão a antiasmática, antibacteriana, fungicida, anticarcinogênica e antivirótica, despertando cada vez mais o interesse de novos pesquisadores e indústrias farmacêuticas (SINOKI et al., 2011).

No Brasil, a *E. tirucalli* é utilizada empiricamente na população por sua ação antiescorpiônica e ofídica, purgativo, (quando ingerido em alta concentração), antirreumático, antiespasmódico, antiasmático, antivirótico, antibiótico, fungicida, expectorante, cauterizante de verrugas, resolutivo no tratamento de carcinomas (ingerido diluído) e antisifilítico (CASEIRO et al., 2008).

2.4.1. Constituintes químicos do látex da *E. tirucalli*

Quimicamente, o látex é constituído por ésteres de forbol, eufol, tirucalol, desoxiforbol, euforcinol, ciclotirucanenol, cicloeufordenol, euforginol, taninos hidrolisáveis (tirucalin A, tirucalin B, euforin F), polifenóis, flavonóides, β -sitosterol, stigmasterol, campferol, ácido palmítico, ácido linoleico e eufol (MACHADO, 2007).

Atualmente as substâncias de maior interesse farmacológico são os diterpenos (ingenóis), triterpeno eufol, flavonóides e polifenóis, respectivamente, com ação antitumoral, antiinflamatória e antioxidante (SAPIÊNCIA, 2010; BIXBI et al., 2005). Os ésteres de forbol também são alvos de estudos com atuação biológica comprovada em processos inflamatórios e modulação da expressão de citocinas (BISHAYI et al., 2002).

2.4.2. Atividades biológicas da *E. tirucalli* descritas na literatura

As atividades biológicas com aplicações terapêuticas da *E. tirucalli*, citadas na literatura científica recente, incluem ação antitumoral (VALADARES et al., 2006; LOPES, 2008), antiviral (BENTACUR-GALVIS et al., 2002), antimicrobiana (PAREKH et al., 2005; VIERA; FRANÇA, 2011), antioxidante (MACHADO et al., 2007), angiogênica (BESSA, 2010), antiinflamatória (BANI et al., 2007) e imunomoduladora (CORONEL et al., 2010, AVELAR et al., 2011).

2.5. Peritonite

Peritonite é a resposta inflamatória da membrana serosa que reveste parte da cavidade abdominal e vísceras a uma agressão. Pode ser primária (sem lesão visceral, como em pacientes com cirrose ou nefropatia), secundária (após lesões perfurantes, inflamatórias, infecciosas ou isquêmicas intra-abdominais) sendo a mais frequente, e terciária (por disfunção na resposta imune) (WITTMANN et al., 1996).

As respostas imediatas à peritonite são hipertermia, distensão de alças intestinais, hiperemia, acúmulo de gases e líquidos (até 4 litros em 24 horas) hipovolemia e dor. Concomitantemente, surgem as respostas cardíacas,

respiratórias, renais e metabólicas. Ocorre também um elevado aporte de fibroblastos que produzem fibrina, responsável pela formação de aderências intra-abdominais (SANTOS, 2001).

Análises microbiológicas do líquido peritoneal em pacientes com peritonite secundária demonstram associação de bactérias aeróbias e anaeróbias. Essas infecções são geralmente polimicrobianas, sendo a *Escherichia coli* e o *Bacteroides fragilis* mais frequentemente encontrados, principalmente na fase tardia da doença (SAYEK, 1997; FAHEL et al., 2001).

Apesar de frequentemente o tratamento das peritonites incluir remoção mecânica de contaminantes através de lavagens peritoneais, administração de antibióticos e restauração de integridade abdominal associada a modernas unidades de tratamento intensivo e cirúrgico, atualmente, a peritonite ainda é responsável por aproximadamente 50% dos óbitos por sepse (SANDS et al., 1997; AGUIAR et al., 1996; CARNEIRO et al., 2001; KREIMER et al., 2005).

A evolução desfavorável de muitos pacientes submetidos a condutas terapêuticas padronizadas tem motivado incessantes estudos comparativos entre diferentes abordagens terapêuticas por meio de modelos experimentais em animais. Experimentalmente, existem vários modelos descritos na literatura que simulam as etapas fisiológicas durante a peritonite aguda em humanos, com mais frequência estão, abertura de segmento intestinal, injeção de fezes (humanas e animais), e injeção de bactérias (URIARTE et al., 1991).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

- Avaliar o efeito da lavagem peritoneal com a solução aquosa do látex da *E. tirucalli* na sobrevida de ratos com peritonite induzida experimentalmente.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a sobrevida dos animais, em horas, submetidos aos tratamentos convencionais e com a solução aquosa do látex da *E. tirucalli*.

- Avaliar a repercussão sistêmica da infecção após os diferentes tratamentos mediante exames laboratoriais.

- Examinar a cavidade abdominal dos animais após o óbito, a fim de comparar aderências e processos infecciosos locais dos animais submetidos aos diferentes tratamentos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Animais utilizados para experimentação

Para realizar o estudo, foram utilizados 30 ratos (*Rattus norvegicus*) linhagem Wistar, machos e adultos, apresentando peso corpóreo variando entre 200 a 300g, procedentes do Biotério Central da Pontifícia Universidade Católica de Goiás e faixa etária entre dois e três meses. Os animais foram alojados em gaiolas individuais de polipropileno, com piso sólido, forradas com maravalha, esterilizadas, conforme padrões internacionais e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal- COBEA. O ambiente foi mantido em temperatura média de 21°C, sistema de ventilação, ciclo de claro-escuro (claridade 7 às 19h; escuro 19 às 7h). O experimento teve início após o período de sete dias de ambientação, conforme preconizado pelos comitês de ética, e foi previamente aprovado pelo comitê de ética da PUC- Goiás protocolo 006/2012.

4.1.2. Certificação botânica da *Euphorbia tirucalli*

A planta *E. tirucalli* se encontrava em propriedade particular, em zona rural, no município de Goiânia – GO. A identificação botânica do exemplar utilizado no experimento foi realizada pelo Dr. José Ângelo Rizzo, diretor do Herbário da Universidade Federal de Goiás. A exsicata foi depositada no herbário da referida instituição, número de registro 47797.

4.2. Metodologias utilizadas

4.2.1. Estudo piloto

No estudo piloto foram utilizados 6 ratos para o estabelecimento da técnica de indução da peritonite e efeitos desta mediante observação da evolução clínica, bem como para definir a concentração do látex que seria utilizada no tratamento.

4.2.1.1. Indução da peritonite

Os animais foram anestesiados no músculo da face anterior da coxa direita, com cloridrato de cetamina 10% (Syntec – Uso Veterinário) na dose de 12,5 mg/kg de peso do animal e submetidos a uma punção abdominal com agulha 25x7, no quadrante inferior esquerdo do abdome. Em seguida, foi injetada na cavidade abdominal uma suspensão de 2g de fezes recentes dos próprios animais, diluída em 17 mL de solução salina. Antes da injeção, a referida suspensão foi filtrada em uma gaze a fim de permitir a sua livre passagem pelo interior da agulha em direção à cavidade. Dessa suspensão foram injetados 5 mL/kg de peso do animal na cavidade abdominal (BROCCO et al., 2008) (Figura 1).



Figura 1- Injeção de solução de fezes recém defecadas na cavidade peritoneal do rato.

4.2.1.2. Diluição do látex da *E. tirucalli*

A seiva foi extraída por meio de uma incisão no tronco e nos galhos da planta adulta, em seguida, coletada utilizando-se uma seringa descartável, pesada e

transferida imediatamente para um recipiente de vidro estéril contendo água destilada. As concentrações iniciais de látex puro foram de 0,1 mL (120mg) e 0,5 mL (600mg) Após a diluição, respectivamente, em 9,9 mL e 9,5 mL de água destilada, as concentrações finais foram de 12mg/mL e 60 mg/mL. A qualidade da solução foi determinada pela ausência de coágulos e pela sua homogeneidade.

4.2.1.3. Evolução dos animais do estudo piloto

Nos animais do estudo piloto, foi observado 6 horas após a injeção de fezes, a ocorrência de peritonite com secreção purulenta na cavidade abdominal, edema e hiperemia de alças intestinais, sendo satisfatório esse tempo e técnica para o propósito da pesquisa. Durante o tratamento da peritonite com a lavagem abdominal utilizando o látex da *E. tirucalli*, foi detectado que a concentração de 60 mg/mL é tóxica para o peritônio, levando os animais a óbito durante o intraoperatório, determinando-se assim, a concentração de 12mg/mL para o tratamento dos animais do experimento.

4.2.2. Procedimento experimental

Seis horas após a indução da peritonite com injeção de suspensão de fezes, 24 ratos foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de 6 animais: 1- (n=6) controle, nenhum tratamento; 2- (n=6) tratamento com dose única intramuscular de antibiótico Unasyn® (Pfizer- São Paulo) 30mg; 3- (n=6) lavagem da cavidade abdominal com solução fisiológica 0,9%; 4- (n=6) lavagem da cavidade abdominal com *E. tirucalli* na concentração de 12mg/mL. Nos grupos 3 e 4 os ratos foram anestesiados via intramuscular na face anterior da coxa direita, com uma mistura de

cloridrato de xilazina 2% (Syntec - São Paulo - Brasil - Uso Veterinário) na dose de 2,5mg/kg e cloridrato de cetamina 10% (Syntec - São Paulo - Brasil - Uso Veterinário) na dose de 50mg/kg, então submetidos à laparotomia mediana, cerca de 2 cm de comprimento. Antes do início da lavagem foi aspirado todo o líquido que se concentrava na cavidade abdominal, em decorrência do processo inflamatório e infeccioso. Posteriormente, foram colocadas as soluções utilizadas para as lavagens abdominais (solução fisiológica 0,9% nos animais do grupo 3, *E. tirucalli* 12mg/mL nos animais do grupo 4) na quantidade de 5mL e deixadas por 2 minutos. Nesse período, as soluções foram manipuladas cuidadosamente entre as vísceras abdominais, para um maior contato com o peritônio. Após esse procedimento, o líquido peritoneal foi enxugado suavemente, com compressa de gaze seca, a fim de retirar a maior quantidade possível de líquido. A parede abdominal foi suturada em dois planos com “mononylon” 4-0, com chuleio simples. No 1º plano suturou-se a aponeurose e o peritônio em conjunto; e no 2º plano, a pele. Na primeira hora do pós-operatório imediato os animais foram colocados em estufas a 37°C, para recuperação anestésica sem hipotermia (Figura 2).



Figura 2- Lavagem abdominal (seta branca), sutura (seta preta), recuperação anestésica em estufa (seta vermelha).

Posteriormente, todos os animais foram colocados em gaiolas individuais, alimentados com ração própria para ratos (Purina) e água *ad libitum*. A hidratação foi

feita com 5 mL de soro ringer lactato (Sanobiol – Minas Gerais – Brasil), dose única via subcutânea a cada 24 horas por dois dias. A analgesia foi realizada em todos os grupos com cloridrato de nalbufina (Cristália - São Paulo - Brasil) na dose de 0,1 mg/kg de peso do animal injetada no subcutâneo de 8 em 8 horas por dois dias. Os animais que foram a óbito foram necropsiados e o horário do óbito foi anotado. Os sobreviventes foram eutanasiados com dose letal de cetamina no 11º dia de pós-operatório para necropsia. Nessa ocasião foi realizada uma incisão em forma de U invertido e foram examinadas, na cavidade abdominal, as possíveis aderências e os focos de infecção macroscópicos. As aderências foram classificadas em seis graus: grau 0- ausência de aderências; grau 1- número reduzido de aderências, de caráter fibrinoso, facilmente desfeitas pela manipulação; grau 2- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre alças intestinais, porém não envolvendo a parede abdominal; grau 3- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre a parede abdominal e um órgão ou estrutura; grau 4- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre a parede abdominal e mais de um órgão ou estrutura; grau 5- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre alças e parede abdominal com fístula entérica (DIOGO-FILHO et al., 2004).

4.2.3. Coleta de sangue para exames laboratoriais

Após 18 horas de tratamento (24 horas após a indução da peritonite), foram coletados 0,5mL de sangue da veia caudal dos ratos com seringa de insulina heparinizada, após antissepsia com álcool 70%, e transferido para tubo com Ácido Etilenodiamino Tetra-acético (EDTA) (Figura 3).



Figura 3- Punção para coleta de sangue da veia caudal.

4.2.4. Contagem de leucócitos

Todas as amostras foram diluídas em líquido de Turk 1:20 (Audaz Reagentes Tecnológicos – São Paulo - Brasil), para lise de células anucleadas, colocadas em câmara de Neubauer (New Optics – São Paulo - Brasil) para visualização e contagem total dos leucócitos em microscópio óptico (Nikon, Modelo - Eclipse E - 200), em aumento de 400x. Posteriormente, foram confeccionados esfregaços das amostras e coradas com Panótico (Laborclin – Paraná - Brasil) para a diferenciação dos leucócitos através de suas especificidades celulares.

4.2.5. Análise estatística

Para a análise estatística dos resultados, foi utilizada a estatística descritiva dos resultados das análises laboratoriais e sobrevida, indicado pela média aritmética, desvio padrão e variação. A fim de comparar as diferenças entre os dados das análises laboratoriais e sobrevida, foi usado o teste ANOVA (Análise de Variância), seguido do teste Tukey, que demonstra entre quais grupos a diferença foi significativa. Para todas as análises foi adotado um nível de significância de $(\alpha) = 0,05$. Utilizou-se o programa estatístico Bioestat 5.0 (AYRES e AYRES, 2007).

5. RESULTADOS

5.1. Análises laboratoriais

A estatística descritiva dos resultados das análises laboratoriais dos grupos: controle (1); tratamento com o antibiótico Unasyn (2); lavagem com solução fisiológica 0,9% (3); lavagem com *E. tirucalli* 12mg/mL (4), estão dispostos na Tabela 1. Pôde-se observar que no grupo 4 houve um aumento significativo na produção de eosinófilos em relação aos grupos 1 e 2. O mesmo se repete com a produção de monócitos em relação ao grupo 2. As médias e respectivos desvios padrão da quantidade de eosinófilos foram – grupo 1; 0 (± 0), grupo 2; 0 (± 0), grupo 3; 68 (± 78), grupo 4; 117 (± 107) e quantidade de monócitos do grupo 1; 264 (± 121), grupo 2; 149 (± 79), grupo 3; 301 (± 176), grupo 4; 363 (± 45) (Tabela 1).

Tabela 1- Estatística descritiva das análises laboratoriais, entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e *E. tirucalli* 12mg/ mL (4).

Parâmetros	Grupos			
	1	2	3	4
Linfócitos ($10^3 \mu\text{L}$)				
Média (\pm DP)	7579 \pm 2034	7848 \pm 2556	7131 \pm 1305	6568 \pm 1145
Variação	3960-9768	5490-11660	5796-9048	5301-8640
Monócitos				
Média (\pm DP)	264 \pm 121	149 \pm 79	301 \pm 176	363 \pm 45
Variação	112-396	0-260	134-580	282-405
Eosinófilos				
Média (\pm DP)	0 \pm 0	0 \pm 0	68 \pm 78	117 \pm 107
Variação	0-0	0-0	0-170	0-244
Neutrófilos Seg.				
Média (\pm DP)	3017 \pm 568	6202 \pm 3039	5166 \pm 2979	4342 \pm 1500
Variação	2375-3968	3510-10120	1683-8670	2632-6700
Neutrófilos bast.				
Média (\pm DP)	223 \pm 163	0 \pm 0	212 \pm 181	177 \pm 198
Variação	0-396	0-0	0-510	0-405
Basófilos				
Média (\pm DP)	0 \pm 0	16 \pm 39	0 \pm 0	0 \pm 0
Variação	0-0	0-96	0-0	0-0
Leucócitos Totais				
Média (\pm DP)	11100 \pm 2402	14233 \pm 5599	12783 \pm 2533	11233 \pm 1633
Variação	6600-13200	9000-22000	9900-17000	9300-13500

DP= Desvio Padrão

A comparação das médias das análises laboratoriais entre os grupos que apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), foram: monócitos entre os grupos 2 e 4; eosinófilos entre os grupos 1 e 4; e grupo 2 entre grupo 4 (Tabela 2) (Figuras 4 e 5). Para as demais especificidades celulares, não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

Tabela 2- Análise de Variância das análises laboratoriais, entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e *E. tirucalli* 12mg/ mL (4).

Parâmetros	p^*	1 x 2	1 x 3	1 x 4	2 x 3	2 x 4	3 x 4
Linfócitos	0,6578	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Monócitos	0,0374	ns	ns	ns	ns	< 0.05**	ns
Eosinófilos	0,0147	ns	ns	< 0.05**	ns	< 0.05**	ns
Neutrófilos seg.	0,1314	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Neutrófilos bast.	0,0782	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Basófilos	0,4147	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Leucócitos Totais	0,3602	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*Análise de Variância; ** Teste Tukey; ns= não significativo.

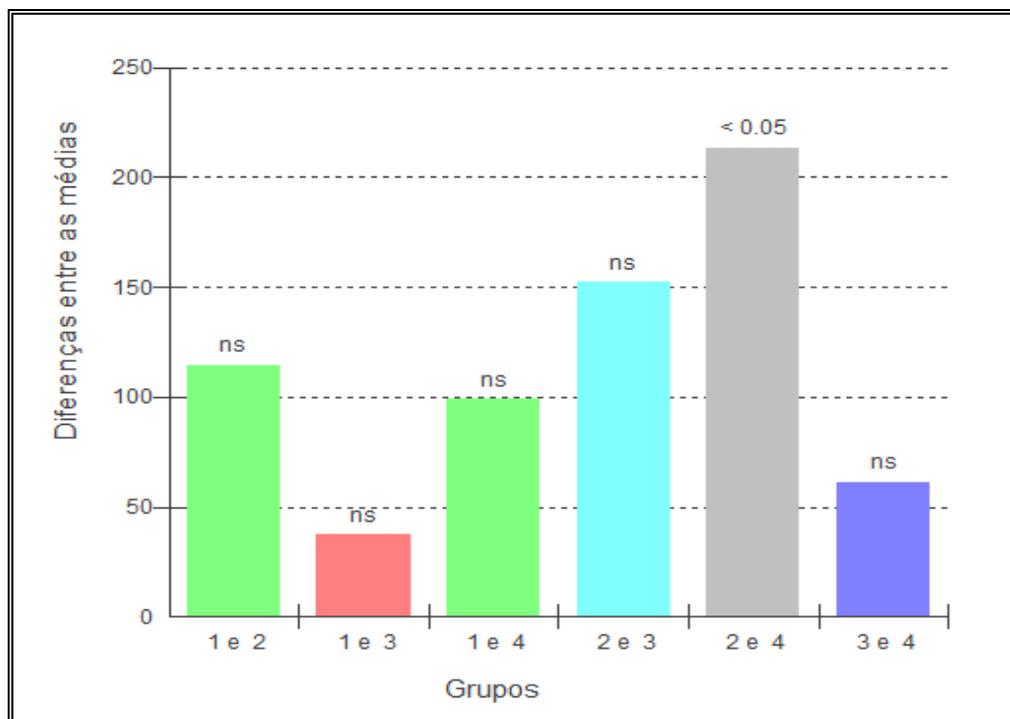


Figura 4- Teste Tukey para a análise laboratorial de monócitos entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e *E. tirucalli* 12mg/ mL (4). ns= não significativo.

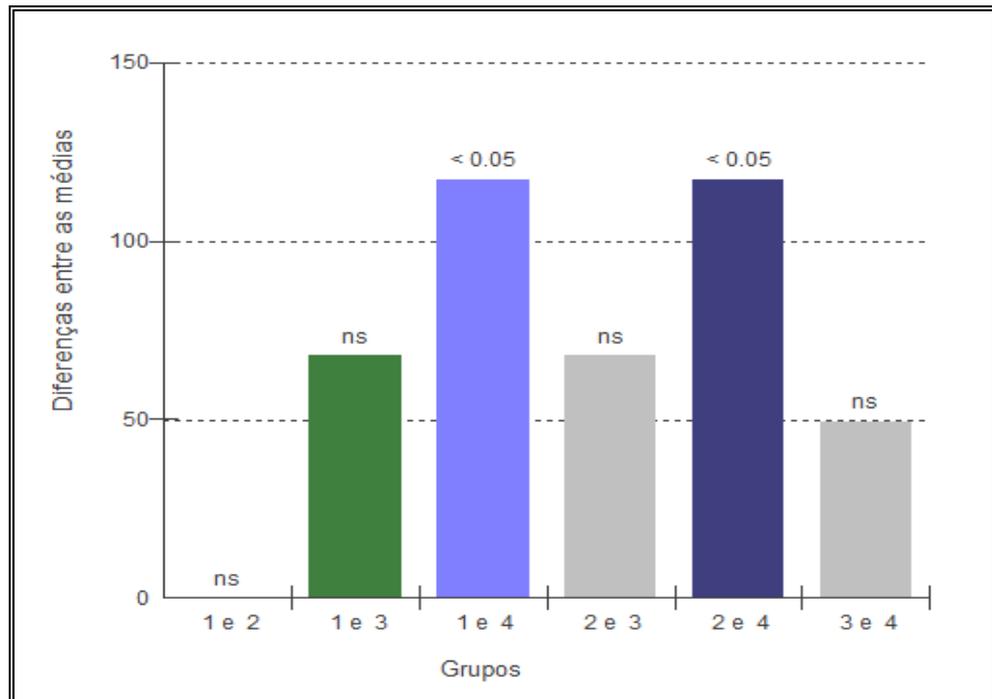


Figura 5- Teste Tukey para a análise laboratorial de eosinófilos entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e *E. tirucalli* 12mg/ mL (4). ns= não significativo.

5.2. Avaliação da sobrevida

A análise de variância da sobrevida dos animais pertencentes aos quatro grupos apresenta-se na Tabela 3. Conforme observado, houve diferença significativa em relação às horas de vida dos diferentes grupos ($p < 0,0001$).

Tabela 3- Análise de Variância da sobrevida (horas de vida), entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e *E. tirucalli* 12mg/ mL (4).

Grupos	Média (\pm Dp)	Varição	p^*
1	43 (\pm 14)	28-61	< 0,0001
2	52 (\pm 20)	30-84	
3	249 (\pm 52)	143-270	
4	270 (\pm 0)	270-270	

Dp= Desvio Padrão; * Análise de Variância

Para definir quais grupos apresentaram diferenças entre si, foi utilizado o teste Tukey. Os pares de grupos que foram diferentes são: 1 e 3; 1 e 4; 2 e 3; 2 e 4 ($p < 0,01$). Os grupos 1 e 2, 3 e 4, não apresentaram diferença significativa em relação às horas de vida ($p > 0,05$) (Figura 6).

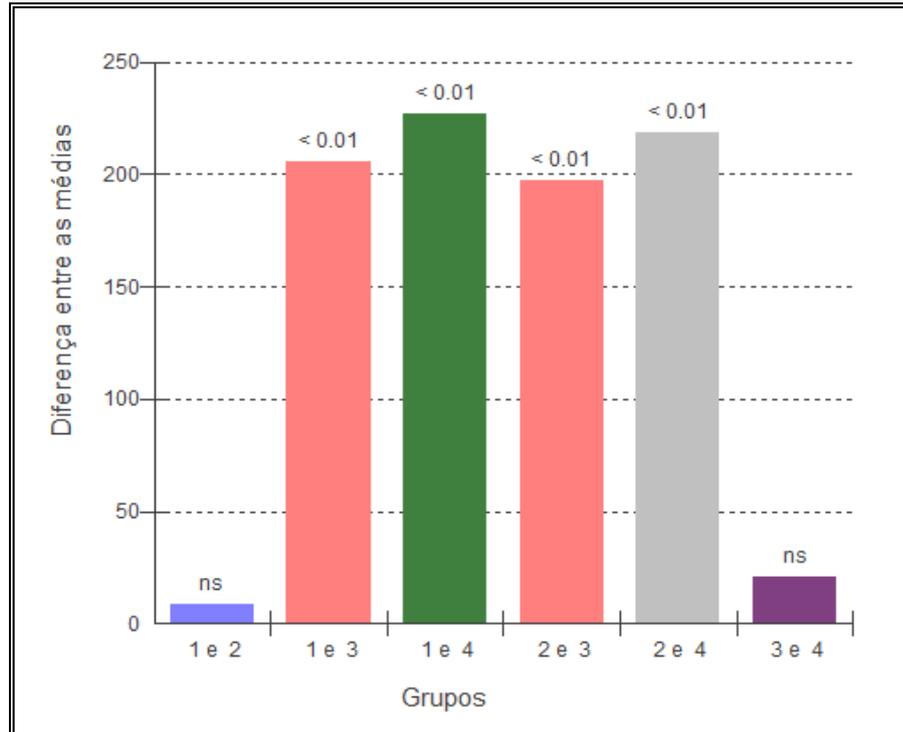


Figura 6- Teste Tukey da sobrevivência entre os grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e *E. tirucalli* 12mg/ mL (4). ns= não significativo.

Os animais dos grupos 1 e 2 não sobreviveram até o 11^o dia de avaliação do experimento (270 horas), sendo a diferença entre eles e os demais grupos, em horas de vida, estatisticamente significativa. Os animais dos grupos 3 e 4 foram os que sobreviveram até o final do experimento, sendo que apenas uma cobaia do grupo 3 foi a óbito antes desse período, com 143 horas de vida. Não foi estatisticamente significativa a diferença entre as horas de vida dos animais dos grupos 3 e 4, uma vez que, os animais submetidos a lavagem com solução fisiológica e com a *E. tirucalli* sobreviveram pelo mesmo período (Figura 7).

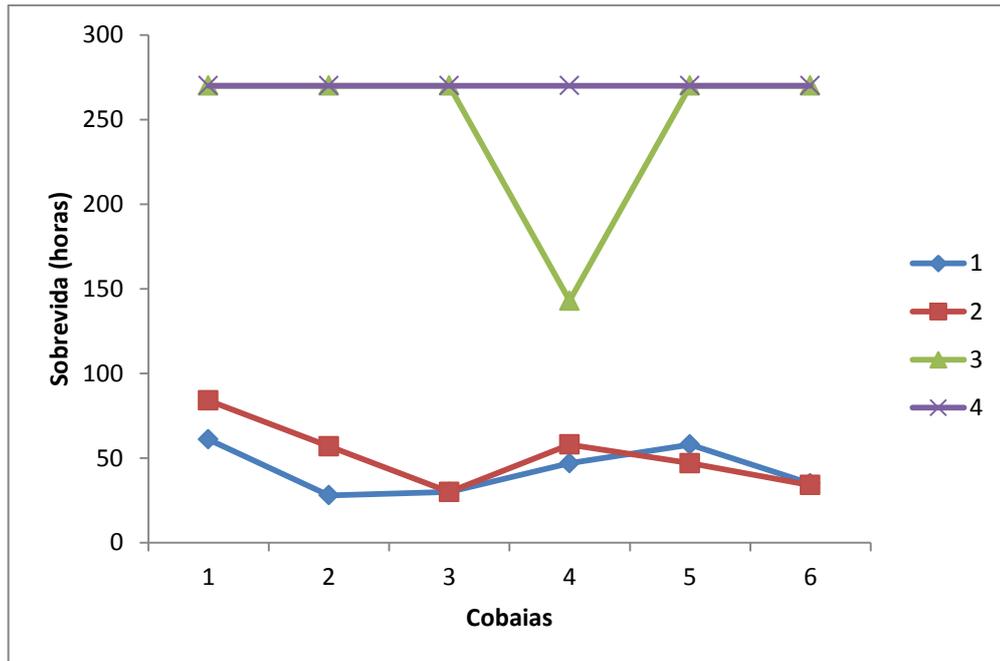


Figura 7- Sobrevivência em horas dos grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e *E. tirucalli* 12mg/mL (4).

5.3. Avaliação das necropsias

A necropsia de todos os animais dos grupos 1 e 2 revelou peritonite difusa com odor fétido, hiperemia generalizada, líquido peritoneal turvo, fibrina, abscessos e alguns animais apresentavam dilatação enterocolônica, necrose em segmentos hepáticos e hemorragia. Não houve formação de abscessos (Figura 8).

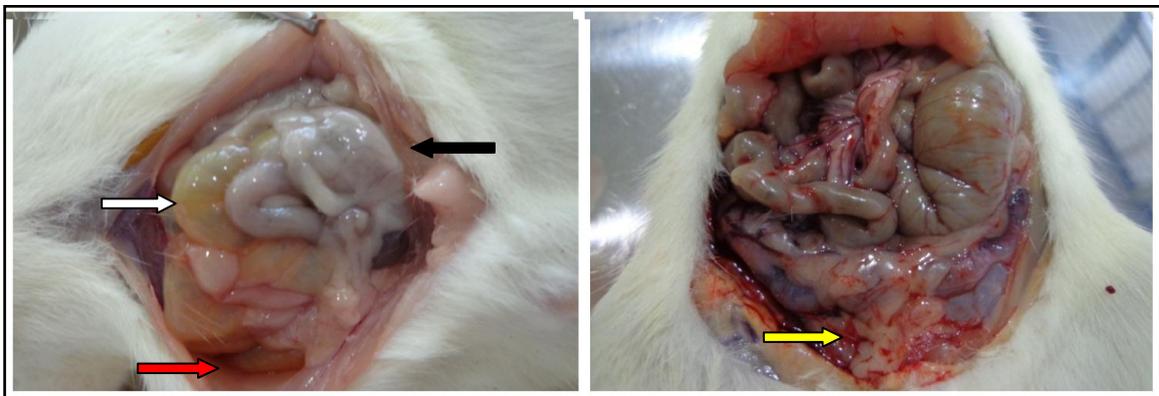


Figura 8- Dilatação enterocolônica (seta branca), fibrina (seta preta), líquido peritoneal turvo (seta vermelha) e pontos hemorrágicos na cavidade abdominal (seta amarela) nos animais dos grupos 1 e 2.

A necropsia dos animais dos grupos 3 e 4 mostrou aderências entre alças intestinais e parede abdominal (Figura 9). Os graus de aderências encontradas podem ser vistos na Tabela 4.



Figura 9- Aderência em parede abdominal (seta branca) e aderência entre alças intestinais (seta vermelha) nos animais dos grupos 3 e 4.

Tabela 4- Classificação em graus de aderências peritoneais entre os seis indivíduos dentro dos grupos controle (1), Unasyn (2), SF 0,9% (3) e *E. tirucalli* 12mg/ mL (4).

Grau*	Grupos/Indivíduos				Total
	1	2	3	4	
0	6	5	2	0	13
1	0	1	2	3	6
2	0	0	1	0	1
3	0	0	1	3	4
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
Total	6	6	6	6	24

*Grau 0- ausência de aderências; grau 1- número reduzido de aderências, de caráter fibrinoso, facilmente desfeitas pela manipulação; grau 2- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre alças intestinais, porém não envolvendo a parede abdominal; grau 3- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre a parede abdominal e um órgão ou estrutura; grau 4- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre a parede abdominal e mais de um órgão ou estrutura; grau 5- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre alças e parede abdominal com fístula entérica (DIOGO-FILHO et al.,2004).

Em 2 animais do grupo 3 observou-se a ocorrência de secreção purulenta e deiscência de sutura nas feridas operatórias, fato não observado nos animais do grupo 4 (Figura 10).



Figura 10- Ferida operatória em animais do grupo 3 com secreção purulenta (seta branca), e ferida operatória em animais do grupo 4 (seta vermelha).

6. DISCUSSÃO

6.1. Da análise laboratorial

As análises da série branca são informações importantes nas avaliações de efeito farmacológico, induzidas por processos patológicos e para a avaliação de resultados obtidos em procedimentos experimentais, principalmente quando comparados com grupos controles sem qualquer tipo de intervenção terapêutica.

De acordo com os dados obtidos em nosso estudo, houve um aumento significativo na produção de eosinófilos no grupo de animais submetidos ao tratamento de lavagem abdominal com a *E. tirucalli* 12mg/mL. A média e respectivo desvio padrão de eosinófilos do grupo 4 foram 117(\pm 107), enquanto que os valores de referência para animais em condições normais segundo Clifford e Giknis (2008), são de 0.07 (\pm 0.04), e para Melo et al. (2012) de 0.12 (\pm 0.01). Os valores de referência para análise laboratorial em ratos sofrem variações de acordo com a linhagem dos animais, espécie, idade, sexo, ambiente e metodologia utilizada para contagem, sendo necessária a consideração de parâmetros de diferentes pesquisas (CLIFFORD; GIKNIS, 2008).

O valor encontrado de eosinófilos no grupo 4 é maior quando comparados aos demais grupos e aos valores de referência. Os eosinófilos são células multifuncionais complexas, pois atuam tanto no processo inflamatório com funções citotóxicas ligadas à sua capacidade de liberar mediadores inflamatórios proteicos e lipídicos, como na ação regulatória da resposta inflamatória tissular por meio da secreção de citocinas e interação direta entre as moléculas de membrana com outras especificidades celulares, em especial de imunidade (CHAUFFAILLE, 2010).

Durante a comparação de tratamento com o antibiótico Unasyn por via

intraperitoneal e intramuscular (dose única) em ratos com peritonite fecal, Kreimer et al. (2005) também encontrou eosinofilia em alguns grupos do estudo. No entanto, o autor relacionou o resultado como reação alérgica ao material do fio de sutura utilizado nas laparotomias. O látex da *E. tirucalli* possui em sua constituição química um componente chamado Desoxiforbol, que devido a sua estrutura altamente insaturada, testes realizados por Furstenberger (1986) indicaram grande atividade irritante. A associação entre eosinófilos e doenças alérgicas é bastante importante, no entanto, mesmo tendo apresentado eosinofilia, os animais tratados com a solução aquosa do látex deste estudo não evidenciaram sintomas clínicos de alergia. Reconhece-se que o eosinófilo tem função benéfica e efetora em intermediar reações inflamatórias em doenças alérgicas, mas pode ser maléfica ao liberar proteínas catiônicas ou mediadores pró-inflamatórios capazes de induzir lesão tecidual (CHAUFFAILLE, 2010).

Com relação à produção de monócitos do grupo 4, a média e respectivo desvio padrão encontrados nesse estudo foram de 363 (± 45), enquanto que os valores de referência para animais em condições normais, segundo Clifford e Giknis (2008), são de 0.09 (± 0.06), e para Melo et al. (2012) de 0.37 (± 0.02). Os animais do grupo 4 foram os que produziram uma maior quantidade de monócitos quando comparados aos demais grupos, no entanto, significativo apenas com relação ao grupo 2 (tratado com antibiótico). Os monócitos são células que se diferenciam em macrófagos e são responsáveis pela fagocitose e morte intracelular de microrganismos. Além disso, macrófagos contribuem para o reparo de tecidos e agem como células ativadoras de antígenos, que são requeridas na indução de respostas imunes. A utilização de altas concentrações de antibióticos podem inibir

efetivamente a produção de células imunes específicas do hospedeiro (UNASYN, 2013).

Assim como encontrado em estudos prévios, a *E. tirucalli* possui atividades biológicas capazes de fazer populações específicas de leucócitos comportarem-se de maneira diferenciada, mesmo quando submetidos a diferentes testes experimentais. Ao analisar *in vitro* sangue periférico humano estimulado com o látex bruto da *E. tirucalli*, Avelar et al. (2011) observaram um aumento significativo no percentual de linfócitos T, favorecendo elementos da resposta imune responsáveis pela cicatrização, fagocitose e aumento de citotoxicidade, imprescindíveis nas repostas antiviral e antitumoral. Valadares et al. (2006) descreveram o mesmo resultado imunomodulador após a administração do látex da *E. tirucalli* em ratos Wistar. Embora a produção de linfócitos tenha se mantido regular e linfócitos tipo T, especificamente, não tenha sido avaliado nesse estudo, a eosinofilia encontrada no exame laboratorial dos animais do grupo 4, demonstra a participação efetiva do látex da *Euphorbia tirucalli* na alteração de parâmetros celulares do sistema imunológico.

6.2. Da sobrevida e necropsias

No presente estudo, a lavagem da cavidade abdominal com a *E. tirucalli* 12mg/mL aumentou a sobrevida dos animais portadores de peritonite fecal até o período avaliado (Figura 7). Resultados semelhantes foram observados por Brocco et al. (2008), evitando o óbito dos animais com peritonite fecal após lavagem peritoneal com lidocaína e, ainda, por Carneiro et al. (2002), após lavagem abdominal com clorexidina. Esse fato não ocorreu quando a peritonite não foi tratada (grupo 1) e tratada apenas com antibiótico (grupo 2). Cumpre ressaltar que no grupo 3, em que se fez lavagem da cavidade peritoneal com solução fisiológica houve uma maior sobrevida do que nos grupos 1 e 2. A beneficência na sobrevida

de ratos com peritonite fecal, após tratamento com lavagem peritoneal de solução fisiológica, foi confirmada por Torres et al. (1999). Não houve diferença significativa em horas de vida do grupo 3 com relação ao grupo 4. Isto demonstrou que a lavagem foi benéfica no modelo de peritonite utilizado nesse experimento. Sabe-se que a lavagem peritoneal é utilizada por um grande número de cirurgiões, no entanto, ainda há controvérsias (WHITESIDE et al., 2005).

A lavagem peritoneal com solução fisiológica aumentou a sobrevivência dos animais assim como a lavagem com a *E. tirucalli*, no entanto, com o látex, não houve nenhum óbito até o período avaliado. A melhora clínica, conseqüentemente, o aumento da sobrevivência e a diminuição da mortalidade dos animais do grupo lavado com o látex já eram esperados, tendo em vista, os altos níveis de compostos bioativos presentes na *E. tirucalli* descritos na literatura científica. Além de o látex apresentar ação efetiva na ativação do sistema imunológico, como descrito anteriormente no presente estudo durante a avaliação dos resultados laboratoriais, o extrato etanólico da *E. tirucalli*, utilizado *in vitro*, em várias concentrações, exibiu atividade antimicrobiana contra diversas cepas de bactérias, dentre elas, a *Escherichia coli*, que apresenta fundamental importância por ser uma das mais frequentes espécies bacterianas encontradas na peritonite fecal (GILL et al., 1991; IPEK et al., 1998; VIERA; FRANÇA, 2011; SUDHAKAR et al., 2006; PAREKH et al., 2005).

Não podemos deixar de considerar também que, apenas a lavagem da cavidade abdominal por si é um mecanismo auxiliar no combate à peritonite, uma vez que remove bactérias e toxinas, influenciando positivamente nos resultados. Outro fator que pode ter contribuído para a maior sobrevivência dos animais nos grupos 3 e 4, foi o tempo apropriado para o início do tratamento após a indução da

peritonite, conseqüentemente menor tempo de infecção. A literatura cita melhores prognósticos quando o procedimento terapêutico se inicia desde cinco minutos até seis horas após a indução da peritonite (TORRES et al., 1999).

Durante as necropsias dos animais para avaliação de aderências e focos macroscópicos de infecção, foram encontrados nos grupos 1 e 2, sinais de infecção peritoneal difusa sem aderências. Embora os animais do grupo 2 tenham sido tratados com antibiótico intramuscular, eles não apresentaram melhora na evolução clínica, sendo o tempo de sobrevivência e avaliação de necropsia muito parecidas com o grupo controle. A escolha do antibiótico a ser usado no grupo 2 decorreu de sua atividade bactericida e da comprovada eficácia contra a microbiota provável presente no trato gastrointestinal, comumente indicado no tratamento de peritonite secundária. No entanto, somente o antibiótico sistêmico dose única, sem uma ação direta sobre a contaminação abdominal não foi suficiente para aumentar a sobrevivência dos animais. Resultado semelhante foi encontrado por Carneiro et al. (2002), na sobrevivência de ratos com peritonite tratados com dose única intramuscular dos antibióticos gentamicina e clindamicina.

Os animais do grupo 1 e 2 apresentaram, antes do óbito, manifestações de sepse tais como taquipnéia, anorexia, adinamia, piloerção e halo escuro em torno dos olhos, com relatos idênticos em outros estudos (GUILGEN, 1998). Nos grupos 3 e 4, não havia sinais macroscópicos de infecção, apenas aderências, sendo mais firmes e resistentes à manipulação, envolvendo parede abdominal e alças intestinais no grupo 4 (Tabela 4). Este pode ter sido mais um fator coadjuvante no aumento da sobrevivência dos animais tratados com o látex, uma vez que atribui-se às aderências, a função de isolar os processos sépticos (abscessos) e proteger o organismo da disseminação bacteriana, mesmo sendo responsável por complicações tardias como

obstrução intestinal e diminuição do fluxo de células imunitárias (RODRIGUES et al., 2005).

A cicatrização da ferida operatória também pôde ser avaliada durante as necropsias. No grupo 4 (tratamento de lavagem abdominal com a *E. tirucalli* 12mg/mL) houve fechamento completo da ferida operatória em todos os animais, sendo que no grupo 3 (tratamento de lavagem abdominal com solução fisiológica), 2 dos 6 animais apresentaram deiscência de sutura (rompimento das bordas) e secreção purulenta na ferida operatória.

Existem estudos evidenciando que o látex da *E. tirucalli* interfere na atividade celular, favorecendo a resposta inflamatória e, por meio da angiogênese, promove efetivamente a cicatrização de feridas (BESSA, 2010). Atividade angiogênica tem sido encontrada também em estudos com outras espécies da família Euphorbiaceae, sendo elas a *Hevea brasiliensis* e *Synadenium umbellatum*, fato que pode explicar o fechamento completo da ferida operatória dos animais tratados com o látex da *E. tirucalli* (MELO et al., 2010; MRUÉ, 2000). O processo de reparação completo da incisão cirúrgica beneficiou os animais do grupo 4, uma vez que, a ferida operatória representa uma porta de entrada para microorganismos e predispõem infecções.

7. CONCLUSÃO

- A lavagem da cavidade abdominal com a *E. tirucalli*, na concentração de 12mg/mL, aumentou significativamente a produção de eosinófilos.
- A lavagem da cavidade abdominal com a *E. tirucalli*, na concentração de 12mg/mL, aumentou a sobrevivência dos animais portadores de peritonite fecal até o período avaliado.
- Houve maior formação de aderências nos animais do grupo tratado com o látex da *E. tirucalli*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo proporcionou importantes informações sobre o efeito da lavagem peritoneal com o látex da *E. tirucalli*, na concentração de 12mg/mL, na sobrevida e na série branca de ratos com peritonite experimental. Estudos adicionais *in vivo*, utilizando modelos de peritonite associados ao tratamento com a planta em diferentes concentrações, seriam relevantes para comparação de resultados, principalmente se associados a exames laboratoriais específicos do sistema imunológico ou pesquisa de atividade antimicrobiana em bactérias causadoras de peritonite.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, J. L. A.; MOREIRA, I. E. G.; CHAVES, M. M.; LOPES, S. L.; SANTANA, V. Peritonite experimental: Modificação técnica do modelo de ligadura do ceco em ratos. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, Recife, v.41, n. 1, p. 59-62, 1996.

AMIRGHOFAN, Z.; BAHMANI, M.; AZADMEHR, A.; JAVIDNIA, K. Induction of apoptosis in leukemia cell lines by *Linum persicum* and *Euphorbia cheiradenia*. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, Bethesda, v. 132, n. 7, p. 427-432, 2006.

AVELAR, B. A. et al. The crude latex of *Euphorbia tirucalli* modulates the cytokine response of leukocytes, especially CD4+ T lymphocytes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 21, n. 4, p. 662-667, 2011.

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. **BioEstat**: Aplicações estatísticas na área de ciências bio-médicas. 4. ed. Belém, 2007.

BANI, S.; KAUL, A.; KHAN, B.; GUPTA, V. K.; SATTI, N. K.; SURI, K. A.; QAZI, G. N. Anti-arthritic activity of a biopolymeric fraction from *Euphorbia tirucalli*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, n. 1, p. 92-98, 2007.

BELTRÃO, N. E. M. **Informações sobre o biodiesel em especial feito com óleo de mamona**. Brasília: EMBRAPA, 2003. Comunicado técnico 177. Disponível em: <<http://w.w.w.cnpa.embrapa/plataformamamona>>.

BESSA, O. G. **Avaliação da atividade angiogênica e do potencial de cicatrização do látex da Euphorbia Tirucalli (Avelóz)**. 2010. 50p. Dissertação de mestrado - Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2010.

BETANCUR-GALVIS, L. A.; MORALES, G. E.; FORERO, J. E.; ROLDAN, J. Cytotoxic and antiviral activities of Colombian medicinal plant extracts of the

Euphorbia genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 4, p. 541-546, 2002.

BISHAYI, B.; SAMANTA, A. K. Modulation of interleukin-8 receptor expression by lipopolysaccharide (LPS) and phorbol myristate acetate (PMA) in human peripheral monocytes--a preliminary study. **Indian Journal Physiology Pharmacology**, v. 46 n.4, p.407- 422, 2002.

BIXBI, M. et al. Ilex paraguariensis extracts are potent inhibitor of nitrosative stress: a comparative study with green tea and wines using protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. **Life Sciences**, v. 77, n. 3, p. 345-358, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. Brasília, DF: Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006.

BROCCO, M. C.; PAULO, D. N. S.; BAPTISTA, J. F. A.; CARRARETTO, A. R.; FERRARI, T. A.; SILVA, A. L. Efeito da lavagem peritoneal com bupivacaína na sobrevida de ratos com peritonite fecal. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Campinas, v. 58, n. 5, p. 470-479, 2008.

CAMARGO, M. T. I. A. **Medicina popular: aspectos metodológicos de pesquisa**. São Paulo: Almed, 1985. 130p.

CARNEIRO, B. G. M. C. et al. Estudo comparativo entre diversos tipos de tratamento para peritonite fecal em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 1, p. 43-48, 2001.

CASEIRO, B. M.; FERREIRA, É. P.; GRILLO, J.G. A.; JOSÉ, H. B. **Estudo do potencial de cura de formas de Câncer utilizando Aveloz (*Euphorbia tirucalli*)** - Amostra de iniciação científica. SP: UFSC, 2008.

CHAUFFAILLE, M. L. L. F. Eosinofilia reacional, leucemia eosinofílica crônica e síndrome hipereosinofílica idiopática. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 395-401, 2010.

CLIFFORD, C. B.; GIKNIS, M. L. A. Clinical Laboratory Parameter for CrI:WI (Han), 2008. Disponível em: http://www.criver.com/sitecollectiondocuments/rm_rm_r_wistar_han_clin_lab_parameters_08.pdf. Acesso em: 4 Dec. 2012.

CORONEL, L. D. S.; GAMEZ, D. L. Y.; SUAREZ, Q. L. P.; PAEZ, L. J.; TORRES, F.; ECHEVERRI, F.; PONTE, S. A.; PATINO, P. J.; TRUJILLO, V. C. M. New promising Euphorbiaceae extracts with activity in human lymphocytes from primary cell cultures. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, Medellín, Colômbia, v. 33, n.2, p. 279-90, 2010.

CORRÊA, A. D.; SANTOS, D. C.; NATIVIDADE, M. A. E.; ABREU, C. M. P.; XISTO, A. L. R. R.; CARVALHO, V. D. Farinha de folhas de mandioca – efeitos da secagem das folhas sobre a atividade da linamarase. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 2, p. 368-374, 2002.

DIOGO-FILHO, A.; LAZARINI, B. C. M.; VIEIRA-JUNYOR, F.; SILVA, G. J.; GOMES, H. L. Avaliação das aderências pós-operatórias em ratos submetidos a peritoniotomias com tela de polipropileno associada à nitrofurazona. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 41, n.4, p. 245-249, 2004.

FAHEL, E.; AMARAL, P.; AZARO, E. **Manual de Atualização em Cirurgia Geral: Diagnóstico e Tratamento**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2001.165p.

FARNSWORTH, N. R. et al. Medicinal plants in therapy. **Bulletin of the Who**, Chicago, vol. 63, n. 6, p. 965-81, 1985.

FERNANDEZ-ARCHE, A. et al. Topical anti-inflammatory effect of tirucallol, a triterpene isolated from *Euphorbia lactea* latex. **Phytomedicine**, Bethesda, vol. 17, n. 2, p.146-148, 2010.

FURSTENBERGER, G.; HECKER, E. On the active principles of the Euphorbiaceae, XII. Highly unsaturated irritant diterpene esters from *Euphorbia tirucalli* originating from Madagascar. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 3, p. 386-397, 1986.

GILL, C. O; DELACY, K. M. Growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* on high pH beef packed under vacuum or carbon dioxide. **International Journal of Food Microbiology**, Hamilton, v. 13, n. 1, p. 21-30, 1991.

GUILGEN, G. A.; CZESKO, N. G.; MALAFAIA, O.; SIMÕES, J. C. Peritonite infecciosa com quantitativos e qualitativos bacterianos conhecidos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 25, n. 1, p. 39-43, 1998.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, Mauritius, vol. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

HEINRICH, M.; GIBBONS, S. Ethnopharmacology in drug discovery: an analysis of its role and potential contribution. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, Bethesda, v. 53, n. 4, p. 425-432, 2001.

IPEK, T.; PAKSOY, M.; COLAK, T.; POLAT, E.; UYGUN, N. Effect of carbon dioxide pneumoperitoneum on bacteremia and severity of peritonitis in an experimental model. **Surgical Endoscopy**, New York, v.12, n. 5, p. 432-435, 1998.

KREIMER, F. et al. Resposta terapêutica e inflamatória de ratos com peritonite secundária submetidos ao uso tópico de ampicilina/sulbactam. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, vol. 20, n. 1, p. 31-39, 2005.

LOPES, X. Avelós: Esperança brasileira no combate ao câncer. 2008. Disponível em <<http://olharglobal.net/2008/10/23/avels-esperana-brasileira-nocombate-ao-cncer/>>. Acesso em: Fev. 2011.

MACHADO, M. M. **Perfil fitoquímico e avaliação dos principais efeitos biológicos e imunológicos *in vitro* da *Euphorbia tirucalli* L.** 2007. 105p. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

MELO. R. P. R.; ANDRADE. L. S.; SILVA. C. B.; ARAÚJO. L. M. M; PEREIRA. M. S.; MRUE. F.; CHEN. C. L. Angiogenic activity of *Synadenium umbellatum* Pax latex. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 1, p. 189-194, 2010.

MELO, M. G. D.; DÓRIA, G. A. A.; SERAFINI, M. R.; ARAÚJO, A. A. S. Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia Plena**, v. 8, n. 4, 2012.

MENDONÇA, R. J. **Caracterização biológica de uma fração angiogênica do látex natural da seringueira – *Hevea brasiliensis***. 2004. 85p. Dissertação de mestrado - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, São Paulo, 2004.

MRUÉ, F. **Substituição do Esôfago Cervical por Prótese Biossintética de Látex - Estudo Experimental em Cães**. 1997. 86p. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, São Paulo, 1997.

MRUÉ, F. **Neoformação tecidual induzida por biomembrana de látex natural com polilisina. Aplicabilidade em neoformação esofágica e da parede abdominal. Estudo experimental em cães**. 2000. 115 p. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, São Paulo, 2000.

PAREKH, J.; JADEJA, D.; CHANDA, S. Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. **Turkish Journal of Biology**, Ancara, v. 29, p. 203-210, 2005.

PHILLIPSON, J. D. Phytochemistry and pharmacognosy. **Phytochemistry**, v. 68, n. 22-24, p. 2960-2972, 2007.

PUSZTAI, R.; FERREIRA, M. J.; DUARTE, N.; ENGI, H.; MOLNAR, J. Macrocyclic lathyrane diterpenes as antitumor promoters. **Anticancer Research**, v. 27, n. 1, p. 201- 205, 2007.

RIBEIRO, R. N. S. et al. Agro environmental sustainability evaluation of productive agroforestry inits in tidal river flood plains Cametá - Pará. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n. 3, p. 359-374, 2004.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. Quality and harvesting specifications of some medicinal plants. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**, Baltimore: Willians & Wilkins, p.1-14, 1996.

RODRIGUES, F. H. O. C.; CARNEIRO, B. G. M. C.; ROCHA, R. F.; PETROIANU, A. Inibição da formação de abscesso abdominal em rato. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 42, n. 1, p. 50-54, 2005.

SANDS, K. E. et al. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. **The Journal of the American Medical Association**, Bethesda, v. 278, n. 3, p. 234-240, 1997.

SANTOS, J. R. J. C. M. Peritonite: Infecção Peritoneal e Sepse. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 21, n. 1, p. 33-41, 2001.

SAPIÊNCIA JORNAL - INFORMATIVO CIENTIFICO DA FAPEPI. Teresina-PI, 2010-Trimestral. ISSN 1983-4209.

SAYEK, I. Animal models for intra-abdominal infection. **Hepatogastroenterology**, v.44, n. 16, p. 923-926, 1997.

SCHMIDT, B.; RIBNICKY, D. M.; POULEV, A.; LOGENDRA, S.; CEFALU, W. T.; RASKIN, I. A natural history of botanical therapeutics. **Metabolism**, v. 57, (Supl. 1-7): p. 3-9, 2008.

SHLAMOVITZ, G. Z. et al. A case of acute keratoconjunctivitis from exposure to latex of *Euphorbia tirucalli* (pencil cactus). **The Journal of Emergency Medicine**, v. 36, n. 3 p. 239-241, 2009.

SHU, Y. Z. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. **Journal of Natural Products**, Columbus, v. 61, n. 8, p.1053-1071, 1998.

SINGH, G. D.; KAISER, P.; YOUSOUF, M. S.; SINGH, S.; KHAJURIA, A.; KOUL, A.; BANI, S. et al. Inhibition of early and late phase allergic reactions by *Euphorbia hirta* L. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 4, p. 316-321, 2006.

SINOKI, L. A.; LIMA, T. B. C.; COSTA, I. B.; FRANCISCO, O. **Levantamento sobre as propriedades terapêuticas de Avelóz (*Euphorbia Tirucalli* Linnaeus 1753)**. Ourinhos: FIO/FEMM, 2011.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H.; **Botânica Sistemática**: Guia Ilustrado para identificação das famílias de angiosperma da flora brasileira, baseado em APG II. 3^oed. Nova Odessa, SP: Instituto plantarum, 2008.

SUDHAKAR, M.; RAOCH, V.; RAO, P. M.; RAJU, D. B.; VENKATESWARLU, Y. Antimicrobial activity of *Caesalpinia pulcherrima*, *Euphorbia hirta* and *Asystasia gangeticum*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 77, n. 5, p. 378-380, 2006.

TOLEDO, A. C.; HIRATA, L. L.; BUFFON, M. C. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, v. 21, n. 1/2, p. 7-13, 2003.

TORRES, O. J. M. et al. Peritonite fecal em ratos: eficácia da lavagem da cavidade peritoneal com solução de cloreto de sódio a 0,9%. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 65- 68, 1999.

UNASYN: injetável. São Paulo: Pfizer, 2013 Bula de remédio.

URIARTE, A. C.; LASHERAS, P. I.; MARTIN, J. L. M. et al. Effect of povidone iodine and chlorhexidine on the mortality and bacterial clearance in the abdominal cavity of peritonitis rats. **The European Journal of Surgery**, v. 157, n. 6-7, p. 393-395, 1991.

UZAIR, M. et al. Biological screening of *Euphorbia helioscopia* L. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, Multan, v. 22, n. 2, p.184-186, 2009.

VALADARES, M. C.; CARRUCHA, S. G.; ACCORSI, W.; QUEIROZ, M. L. *Euphorbia tirucalli* L. modulates myelopoiesis and enhances the resistance of tumour-bearing mice. **International Immunopharmacology**, São Paulo, vol. 6, n. 2, p. 294-299, 2006.

VIEIRA, V. V.; FRANÇA, O. J. F. Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico das partes aéreas de *Euphorbia tirucalli* Linneau (Euphorbiaceae). **Scientia plena**, Sergipe, v. 7, n. 4, p. 1-6, 2011.

WANG, Y. B.; HUANG, R.; WANG, H. B.; JIN, H. Z.; LOU, L. G.; QIN, G. W. Diterpenoids from the roots of *Euphorbia fischeriana*. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 6, p. 967- 970, 2006.

WHITESIDE, O. J.; TYTHERLEIGH, M. G.; THRUSH. S.; FAROUK. R.; GALLAND, R. B. Intraoperative peritoneal lavage - who does it and why? **Annals of the Royal College of Surgeons of England**, v. 87, n. 4, p. 225- 228, 2005.

WITTMANN, D.H.; SCHEIN, M.; CONDON, R. E. Management of secondary peritonitis. **Annals of Surgery**, v. 224, n.1, p. 10-18, 1996.

YANG, C. M. et al. *Euphorbia thymifolia* suppresses herpes simplex virus-2 infection by directly inactivating virus infectivity. **Clinical and Experimental Pharmacology Physiology**, Kaohsiung, v. 32, n. 5-6, p. 346-349, 2005.

ZHANG, W. K.; XU, J. K.; ZHANG, X. Q.; YAO, X. S.; YE, W. C. Chemical constituents with antibacterial activity from *Euphorbia sororia*. **Nature Product Research**, Nanjing, v. 22, n. 4, p. 353-359, 2008.

ANEXO 1



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER CONSUBSTANCIADO

1- IDENTIFICAÇÃO

1.1. Título do Projeto: EFEITOS DO TRATAMENTO TÓPICO COM O LÁTEX DE *EUPHORBIA TIRUCALLI* EM RATOS COM PERITONITE EXPERIMENTAL

1.1. Finalidade: Projeto de Dissertação de Mestrado

1.2. Protocolo CEP: 006/2012

1.3. Instituição onde será realizado: Laboratório de Biotecnologia, Pontifícia Universidade Católica de Goiás

1.4. Data de apresentação ao CEP: 26/10/2012

2. OBJETIVOS

Geral: Avaliar o efeito da lavagem peritoneal com a solução aquosa do látex da *E. tirucalli* na sobrevivência de ratos com peritonite experimental

Específicos: avaliar vantagens e/ou desvantagens da lavagem peritoneal com a solução aquosa do látex da *E. tirucalli* em ratos com peritonite induzida experimentalmente; avaliar a sobrevivência dos animais em horas submetidos ao tratamento convencional e com a solução aquosa do látex da *E. tirucalli*; avaliar a evolução dos animais mediante exames laboratoriais; avaliar a cavidade abdominal dos animais após o óbito, a fim de se comparar aderências e focos macroscópicos de infecção dos grupos de animais submetidos a diferentes tratamentos.

3. SUMÁRIO DO PROJETO

3.1. Descrição e caracterização da amostra: adequado

3.2. Condições de manutenção dos animais: adequado

3.3. Adequação de metodologia e considerações sobre o sofrimento imposto aos animais: adequado

3.4. Discussão sobre a possibilidade de métodos alternativos: não se aplica

3.5. Utilização de agente infeccioso/gravidade da infecção a ser observada: não se aplica

3.6. Anestésico/analgésico utilizado: adequado

3.7. Método de eutanásia: adequado

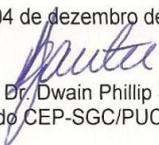
3.8. Destino do animal (caso não seja submetido à eutanásia): não se aplica

4. COMENTÁRIOS DO RELATOR FRENTE ÀS ORIENTAÇÕES DOS PRINCÍPIOS ÉTICOS DA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL, RESOLUÇÃO Nº 879 DO CFMV, LEI Nº 11794/08:

Quanto ao procedimento metodológico adotado, o projeto está de acordo em todos os quesitos, considerando as leis e resoluções atuais para o desenvolvimento de pesquisa envolvendo animais de experimentação.

5. PARECER DO CEP: APROVADO

Goiania, 04 de dezembro de 2012.


Prof. Dr. Dwain Phillip Santee
Coordenador do CEP-SGC/PUC Goiás