Viviane Rossi Figueiredo

**Avaliação dos efeitos pulmonares e
sistêmicos agudos em resposta à injeção
intrapleural de talco de diferentes tamanhos
de partículas**

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências**

**Área de Concentração: Pneumologia
Orientadora: Profa. Dra. Leila Antonangelo**

São Paulo

2006

“Sou-lhe grato, principalmente, pelo privilégio que me obteve de poder --- sem demasia das ilusões, mas reverente --- levantar a voz nesse recinto, como um menino que depõe o seu brinquedo na superfície translúcida de uma água, para a qual a serenidade não é a estagnação, e cujo brilho da face viva nada rouba à projeção poderosa da profundidade”.

João Guimarães Rosa

DEDICATÓRIAS

DEDICATÓRIAS

Ao meu querido Luiz Fernando, meu amigo e companheiro, que trouxe luz para a minha vida e calor para o meu coração;

Aos meus filhos Eduardo e Maria Fernanda, o meu sol e a minha lua;

Aos meus pais, Ruth e Demóstenes, que velaram o meu sono, me embalaram no colo e me amaram profundamente todos esses anos.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

- À minha orientadora, **Profa. Dra. Leila Antonangelo**, exemplo de mulher profissional, pela dedicação e perseverança mesmo na adversidade. Agradeço cada minuto de sua atenção, quando seu minuto era tão precioso;
- Ao **Prof. Dr. Francisco Vargas Suso**, pelo apoio e incentivo, nessa etapa tão importante da minha vida. Agradeço as orientações e principalmente as repreensões, fonte de aprendizado;
- Ao **Prof. Dr. Evaldo Marchi e Profa. Dra. Lisete Ribeiro Teixeira**, exemplos de dedicação acadêmica, pelo apoio e incentivo e principalmente pelo ombro amigo nas horas de dificuldade;
- Ao **Dr. Eduardo Henrique Genofre**, pela disponibilização tão gentil e tranqüila das informações. Agradeço imensamente sua generosidade e seu apoio;
- Ao **Serviço de Broncoscopia do HCFMUSP**, pelo grupo maravilhoso de profissionais (médicos, enfermeiros e funcionários administrativos), que me incentivaram em durante todos esses anos;
- Ao **Grupo de Pleura InCor HCFMUSP**, que me acolheu com

amizade e respeito;

- Aos colegas **Dra. Milena Marques Pagliarelli Acencio, Carlos Sérgio Rocha Silva e Gabriela Gaspar Carnevale**, pelas orientações durante todas as etapas do trabalho;
- Aos profissionais **Luiz César Moreira, Tânia Cabral, Antoniete Lamana e Geni Pedroso**, pela paciência e dedicação, recebendo minhas amostras mesmo após o horário.
- À **Profa Dra. Vera Capelozzi e ao colega Edwin Parra**, pela gentileza na análise histológica, fundamental para a finalização do estudo;
- À **Comissão de Pós-graduação**, pelo apoio, capacidade de orientação e transmissão de informações.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

INTRODUÇÃO	01
OBJETIVOS	09
MATERIAL E MÉTODOS	10
Composição dos grupos	10
Análise do talco com relação ao tamanho e à composição elemental das partículas	12
Injeção do esclerosante	15
Eutanásia	15
Coleta de sangue	16
Coleta de lavado broncoalveolar	16
Coleta dos pulmões para análise histológica	17
Fator de correção da diluição do lavado broncoalveolar	17
Citologia global e diferencial do lavado broncoalveolar e do sangue	18
Dosagens bioquímicas e imunológicas no soro e no LBA	19
Análise histológica e contagem de partículas de talco nos pulmões	20
Análise estatística	21
RESULTADOS	22
1 – Sangue e lavado broncoalveolar	22
1.1 – Leucócitos	22
1.2 – Neutrófilos	24
1.3 - Fator de correção da diluição do lavado broncoalveolar	25
1.4 – Desidrogenase láctica	25

1.5 – Proteína C reativa	25
1.6 – Fator de crescimento endotelial vascular	27
1.7 – Interleucina 8	32
2 – Correlações	37
2.1 - Correlações observadas entre os valores obtidos de IL-8, VEGF e DHL no LBA e no sangue	37
2.2 - Correlação entre os valores de IL-8, VEGF e DHL obtidos no LBA à direita e à esquerda	38
2.3 – Correlações entre os valores de IL-8, VEGF e DHL no LBA (direita e esquerda) e sangue.	40
3 - Avaliação quantitativa de partículas de talco nos pulmões dos animais dos grupos TP, TM e controle	41
4 – Avaliação histológica do pulmão dos animais dos grupos TP e TM e controle	43
DISCUSSÃO	55
CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS	63
ANEXOS	
ANEXO A	
ANEXO B	
ANEXO C	

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

DHL	Desidrogenase láctica
DTPA	Ácido pentético complexado com tecnécio 99m
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
HE	Hematoxilina-eosina
IL	Interleucina
IPT	Instituto de Pesquisas Tecnológicas da Universidade de São Paulo
LBA	Lavado broncoalveolar
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
PCR	Proteína C reativa
SDRA	Síndrome do desconforto respiratório agudo
TM	Talco de partículas de tamanhos diversos
TNFα	Fator de Necrose Tumoral
TP	Talco de partículas pequenas
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Aspecto do talco de partículas pequenas (TP). Microscopia Eletrônica de Varredura (2,0 KX).	14
Figura 2: Aspecto do talco misto de partículas de tamanhos diversos (TM). Microscopia Eletrônica de Varredura (3,5 KX).	14
Figura 3: Evolução temporal dos níveis séricos de PCR (mg/L) de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM.	26
Figura 4: Evolução temporal dos níveis séricos de VEGF (pg/mL) de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM.	30
Figura 5: Evolução temporal dos níveis de VEGF no LBA à direita e à esquerda de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM.	30
Figura 6: Evolução temporal dos níveis séricos de IL-8 (pg/mL) de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM.	35
Figura 7: Evolução temporal dos níveis de IL-8 no LBA à direita e à esquerda de coelhos submetidos à injeção de TP e TM intrapleural.	35
Figura 8: Correlação entre os níveis de VEGF (pg/mL) do sangue e do LBA à direita e à esquerda no grupo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP.	36
Figura 9: Correlação entre os níveis de VEGF (pg/mL) do sangue e do LBA à direita e à esquerda no grupo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TM.	37

Figura 10: Correlação entre os níveis de IL-8 (pg/mL) no lavado broncoalveolar à direita e no lavado broncoalveolar à esquerda.	38
Figura 11: Correlação entre os níveis de VEGF no LBA à direita e à esquerda.	38
Figura 12: Correlação entre os níveis de DHL no LBA à direita e à esquerda (grupo TP).	39
Figura 13: Correlação entre os níveis de IL-8 e de VEGF no LBA à direita e à esquerda dos animais submetidos à injeção intrapleural de TP.	40
Figura 14: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TM. Presença de partículas de talco. HE com luz polarizada, aumento de 400X.	41
Figura 15: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TP. Presença de partículas de talco. HE com luz polarizada, HE aumento de 400X.	41
Figura 16: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TP. Presença de capilarite (C) e macrófagos (M). HE aumento de 400X.	45
Figura 17: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TM. Presença de macrófagos (setas). HE, aumento de 400X.	45
Figura 18: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TP. Presença de trombo. HE, aumento de 400X.	46

Figura 19: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TM. Presença de infiltrado linfomononuclear (setas). HE, aumento de 400X.

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Total de leucócitos/mm ³ no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os grupos TP e TM.	23
Tabela 2: Total de leucócitos/mm ³ no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os lados direito e esquerdo.	23
Tabela 3: Níveis séricos de PCR (mg/dL) de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação com grupo controle.	25
Tabela 4: Níveis séricos de PCR (mg/dL) de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os grupos TP e TM.	26
Tabela 5: Níveis de VEGF (pg/mL) no sangue de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM. Comparação com grupo controle.	27
Tabela 6: Níveis de VEGF (pg/mL) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação com grupo controle.	28
Tabela 7: Níveis de VEGF (pg/mL) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os lados direito e esquerdo.	29
Tabela 8: Níveis de IL-8 (pg/mL) no sangue de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação com	

grupo controle.	31
Tabela 9: Níveis de IL-8 (pg/mL) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM. Comparação com grupo controle.	32
Tabela 10: Níveis séricos de IL-8 (pg/mL) de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os grupos TP e TM.	33
Tabela 11: Níveis de IL-8 (pg/mL) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM. Comparação entre os grupos TP e TM.	33
Tabela 12: Níveis de IL-8 (pg/mL) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM. Comparação entre os lados direito e esquerdo.	34
Tabela 13: Avaliação da celularidade nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação com grupo controle.	43
Tabela 14: Avaliação da capilarite nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação com grupo controle.	44
Tabela 15: Avaliação da presença de infiltrado linfomononuclear nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação com grupo controle.	47
Tabela 16: Avaliação da presença de macrófagos nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de	

TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação com grupo controle. 48

Tabela 17: Avaliação da celularidade nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os grupos TP e TM. 49

Tabela 18: Avaliação da presença de infiltrado linfomononuclear nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os grupos TP e TM. 49

Tabela 19: Avaliação da celularidade nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os lados direito e esquerdo. 50

Tabela 20: Avaliação da presença de capilarite nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os lados direito e esquerdo. 50

Tabela 21: Avaliação da presença de infiltrado linfomononuclear nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os lados direito e esquerdo. 51

RESUMO

Figueiredo VR. Avaliação dos efeitos pulmonares e sistêmicos agudos em resposta à injeção intrapleural de talco de diferentes tamanhos de partículas [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 68p.

Pacientes com comprometimento pleural por neoplasias malignas freqüentemente apresentam derrame pleural recidivante. Nestes casos, a sínfise das membranas pleurais (pleurodese) com a finalidade de evitar o acúmulo de líquido no espaço pleural deve ser considerada. O talco é o agente mais utilizado indicado para essa finalidade. Entretanto, seu uso terapêutico continua controverso devido aos efeitos deletérios que podem advir de sua utilização. O mais grave entre todos é a insuficiência respiratória aguda, que pode evoluir para a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA). Essa complicação pode estar relacionada com a composição, com o tamanho das partículas de talco e com a resposta inflamatória desencadeada pelas mesmas. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos pulmonares e sistêmicos em resposta à injeção intrapleural (IIP) de talco de partículas pequenas (TP) e de partículas de tamanhos diversos (TM). Cem coelhos foram submetidos à IIP com talco. Metade dos animais foi injetada com TP (diâmetro médio= 6,41 μm) e outra metade com TM (diâmetro médio= 21,15 μm), que é o talco usado na prática clínica. Quinze coelhos compuseram o grupo controle. Foram avaliados a celularidade, os níveis de desidrogenase láctica (DHL), proteína C reativa (PCR), interleucina-8 (IL-8) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) no sangue e no lavado broncoalveolar (LBA) às 6, 24, 48, 72 e 96 horas após a IIP. Realizou-se também a quantificação de partículas

de talco e a análise histológica dos pulmões. Utilizamos o teste t e Anova na análise estatística, considerando $p < 0,05$ como significância estatística. A maioria dos parâmetros avaliados apresentou níveis mais elevados no sangue e no LBA dos animais injetados com TP ou TM quando comparados ao grupo controle, sugerindo uma resposta sistêmica e pulmonar à IIP de talco. Com relação aos grupos de talco, os níveis de PCR e de IL-8 apresentaram-se mais elevados no sangue e no LBA dos animais injetados com TP. Partículas de talco foram observadas em todas as lâminas examinadas, sem diferenças significativas entre os grupos. Os pulmões dos animais injetados com TP apresentaram infiltrado linfomononuclear mais exuberante que no grupo TM. A resposta inflamatória pulmonar antecedeu (24 h) a resposta sistêmica (48 h), sugerindo que o pulmão é o principal órgão da resposta sistêmica aguda. Estes achados estudo nos permitem concluir que o talco calibrado com partículas maiores deva ser utilizado na prática clínica, objetivando uma pleurodese mais segura.

Descritores: 1. Pleurodese, 2. Talco/administração & dosagem, 3. Mediadores da inflamação/uso diagnóstico, 4. Coelhos, 5. Pneumonia/induzido quimicamente, 6. Lavagem broncoalveolar

SUMMARY

Figueiredo VR. Pulmonary and systemic response following intrapleural instillation of talc with different particle size [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2006. 68p.

Talc has been the pleurodesis agent of choice for the local treatment of recurrent pleural diseases. However, serious concerns exist about its safety. The acute respiratory failure is considered its most serious complication. The physiopathologic mechanisms involved are still unclear. It has been attributed to the systemic dissemination of small talc particles, to the composition of talc and to the inflammatory response. The purpose of this study was to evaluate the systemic and pulmonary response following intrapleural instillation of small particles talc (ST) and mixed particles talc (MT). One hundred rabbits received intrapleural instillation of talc as follows: fifty rabbits were instilled with ST (mean diameter=6,41 microns), and 50 rabbits with MT (mean diameter= 21,15 microns). As control (without talc instillation) were used 15 animals. We studied the pulmonary and systemic inflammatory response (total cell count and differential, levels of lactate dehydrogenase (LD), C-reactive protein (PCR), interleukin-8 (IL-8) and human vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum and bronchoalveolar lavage (BAL). Histologic analysis of both lungs and quantitation of talc particles were done at 6, 24, 48, 72 and 96h. ST group showed higher pulmonary and systemic inflammatory response than did the MT group. PCR and IL-8 concentrations were higher in serum and BAL of ST group than the MT group. Many talc particles were observed in the

pulmonary tissue of both talc groups, but without statistical significance. We also observed a predominance of cellular infiltrates (lymphomononuclear cells) in the lungs of ST group. The pulmonary inflammatory response (increased IL-8 in BAL) was earlier (24h) than the systemic inflammatory response (48 h). These observations suggest that the main organ in the systemic inflammatory acute response is lung. So, we recommend the clinical use of mixed talc without small particles to induce safety pleurodesis.

Descriptors: 1. Pleurodesis, 2. Bronchoalveolar lavage,
3. Inflammation mediators/diagnostic use,
4. Talc/administration & dosage, 5. Rabbits,
6. Pneumonia/chemically induced.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Pacientes com comprometimento pleural por neoplasias malignas freqüentemente apresentam derrame pleural recidivante. Estes derrames, pelo tamanho e pela rapidez de recorrência, não invariavelmente conduzem a quadros de grande desconforto respiratório (1,2). Nestes casos, a sínfise das membranas pleurais (pleurodese) com a finalidade de evitar o re-acúmulo de líquido no espaço pleural é uma das formas de abordagem terapêutica a ser considerada. Estima-se que somente nos Estados Unidos da América, 100.000 pacientes sejam submetidos à pleurodese por ano (3).

A pleurodese minimamente invasiva, realizada através da colocação intrapleural de dreno de fino calibre, tem sido cada vez mais utilizada e representa, no momento, a melhor abordagem para a indução da pleurodese (4). Nesta técnica, após o esvaziamento da cavidade pleural, introduz-se o agente esclerosante promovendo a sínfise das duas membranas pleurais e conseqüentemente, a obliteração do espaço pleural. Por ser realizada com dreno de fino calibre, prescinde da utilização de anestesia geral, o que possibilita sua realização ambulatorialmente (4).

Muitos agentes esclerosantes têm sido utilizados na indução da pleurodese, dentre eles o talco (5-7), o nitrato de prata (8,9), a tetraciclina (8), a bleomicina (7,10-12) e o *Corynebacterium parvum* (8,13). A efetividade destes agentes varia segundo os dados de literatura. Para o talco, estima-se em até 95% de taxa de sucesso; 76% para o *Corynebacterium parvum*; 67% para a tetraciclina; 54% para a bleomicina e

90% para o nitrato de prata (14,15). Por conseguinte, a escolha do esclerosante geralmente recai sobre sua taxa de eficácia, facilidade de obtenção e custo de mercado.

O talco livre de asbestos é o agente mais universalmente utilizado na indução de pleurodese (aproximadamente 68% das indicações na prática clínica) (4) por apresentar grande disponibilidade, baixo custo e alto índice de efetividade (70 a 95%, segundo vários autores) (6, 16-18). Quanto à forma de utilização, a instilação do talco pode ser realizada na forma de polvilhamento ("poudrage") durante toracoscopia ou na forma de suspensão ("slurry") via dreno torácico (18, 19).

Entretanto, o uso terapêutico do talco continua controverso na prática médica devido aos efeitos deletérios que podem advir de sua utilização. Estes efeitos colaterais podem variar desde complicações menores como febre, discreta hipoxemia, dispnéia, hipotensão e infecção local a complicações maiores que incluem a arritmia, a trombose venosa, a embolia pulmonar e a insuficiência respiratória aguda, que em alguns casos pode evoluir para a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) (6, 18, 20-29).

Trabalho recente desenvolvido sob a forma de questionário com médicos que utilizam talco como agente esclerosante seletivo, relata que 70% destes já observaram insuficiência respiratória como complicação da pleurodese. (4).

Em recente revisão de literatura são mencionados pelo menos 42 casos de SDRA após a administração intrapleural de talco, sendo que em 11 desses casos, os pacientes evoluíram para óbito (30). No quadro 1

sumarizamos vários estudos de pleurodese induzida com talco desenvolvidos em centros médicos de diversos países (6, 7, 9, 11, 12, 18, 20-29, 31-41).

Conforme se pode notar, há diversidade no relato das doses utilizadas de talco, bem como nas vias de administração. Nem todos os trabalhos relatam os efeitos colaterais advindos da administração deste agente bem como, se houveram ou não exames laboratoriais complementares que comprovassem a evolução desfavorável do paciente. Nos casos que evoluíram para insuficiência respiratória (6, 18, 20-22, 24, 26-29), observa-se que o início dos sintomas foi precoce (entre 2 e 96 horas da indução) sugerindo que o quadro é agudo. Alguns pacientes pioraram gradativamente e, a despeito da intubação traqueal e ventilação mecânica, evoluíram para óbito, enquanto que outros apresentaram melhora gradual e recuperação lenta, com evolução clínica satisfatória. Assim, qualquer investigação a respeito do mecanismo de ação do talco na insuficiência respiratória deve focar as primeiras 96 horas.

Nestes casos mais graves (incidência de 1 a 9%), cuja taxa de mortalidade é alta (35 a 65%) (16, 18, 22, 26), o mecanismo fisiopatológico envolvido com a lesão pulmonar aguda não é totalmente conhecido. O termo síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) se refere a quadro clínico com dispnéia, taquipnéia e cianose e cuja radiografia de tórax evidencia infiltrado alveolar difuso. Os achados histológicos incluem dano alveolar difuso com infiltração celular por neutrófilos, macrófagos e eritrócitos; membrana hialina e edema rico em proteína nos espaços alveolares, além de danos no capilar e no epitélio alveolar (42).

QUADRO 1 - Relação de estudos clínicos de pleurodese por talco, de 1983 a 2006, em diversos países do mundo

Autor	Ano	País	n	indicação	dose	forma de administração	diâmetro das partículas	IRA (n)	Início dos sintomas	Morte	Talco
Rinaldo JE	1983	EUA	3	DPM	10g	suspensão	NI	3	6 - 72 hs	1	NI
Bouchama A	1984	França	1	DPM	2g	suspensão	NI	1	3 hs	0	+ LBA
Almind M	1989	Dinamarca	96	PTX	5g	suspensão	NI	0	ausentes	0	NI
Webb WR	1992	EUA	34	DPM B	5g	suspensão	NI	0	ausentes	0	NI
Weissberg D	1993	Israel	360	todos	2g	susp / insuf	NI	0	ausentes	0	NI
Kennedy L	1994	EUA	75	90%M	10g	suspensão	NI	3(4%)	72 hs	0	NI
Yim APC	1996	China	46	DPM B	5g	insuflação	NI	0	ausentes	0	NI
Viallat	1996	França	360	DPM	3-4,5g	insuflação	NI	0	ausentes	0	NI
Campos JRM	1997	Brasil	338	DPM B	2g	insuflação	NI	4	24-48hs	0	LBA + necro +
Noppen M	1997	Bélgica	28	PTX	2g	insuflação	NI	0	ausentes	0	NI
Zimmer PW	1997	EUA	19	DPM	5g	suspensão	NI	0	ausentes	0	NI
Danby CA	1998	EUA	24	DPM	3-8g	insuflação	NI	0	ausentes	0	NI
Aelony Y	1998	EUA	25	DPM	2,5-5g	insuflação	NI	0	ausentes	0	NI
Rehse D	1999	EUA	89	todos	5g	suspensão	NI	9%	ausentes	0	NI
Marom EM	1999	Inglaterra	32	DPM	5-10g	insuflação	NI	0	ausentes	0	NI
Diacon AH	2000	Suiça	15	DPM	5g	insuflação	NI	0	ausentes	0	NI
Brant A	2001	N. Zelândia	33	86%DPM	2,5/3g	suspensão	NI	1	2 - 20hs	1	NI
Campos JRM	2001	Brasil	614	todos	2g	insuflação	5«70	7(1,3%)	12 hs	3	+LBA +necro
Cardillo G	2002	Itália	611	DPM	5g	insuflação	NI	0	ausentes	0	NI
Gill AJ	2004	Austrália	1	DPB	alta	insuflação	NI	1	18hs	1	ausente na necro
Aelony Y	2004	EUA	295	todos	7,5-10g	insuflação	NI	1	96 hs	0	NI
Dresler CM	2005	EUA	482	DPM	4-5g	susp / insuf	NI	8%I;4%S	NI	6I;5S	NI
Pacholani M	2005	Brasil	25	DPM	5g	suspensão	6,4«50,5	0	ausentes	0	NI
Kolschmann S	2005	Alemanha	102	DPM	8g	insuflação	NI	0	ausentes	0	NI
Aelony Y	2005	EUA	26	M	2g-5g	insuflação	5,5	0	ausentes	0	NI
Gasparri R	2006	Itália	71	PTX	8g	insuflação	NI	0	ausentes	0	NI
Froudarakis ME	2006	Grécia	18	todos	2g - 4g	susp / insuf	NI	0	ausentes	0	NI
Cardillo G	2006	Itália	816	PTX	2 g	insuflação	< 50	0	ausentes	0	NI

IRA - insuficiência respiratória aguda, n - número de casos, DPM - derrame pleural maligno, PTX - pneumotórax, DPB - derrame pleural benigno, M -mesotelioma, NI - não informado

Embora a literatura cite casos de insuficiência respiratória após a utilização de talco na indução de pleurodese e estes às vezes serem descritos como SDRA devido ao padrão clínico similar, falta na maioria dos trabalhos, a descrição do substrato anatômico das lesões pulmonares que caracterizariam a lesão como síndrome do desconforto respiratório agudo (43).

No princípio, a maior parte destas complicações foi atribuída ao grau de impureza nas preparações de talco, mais especificamente à contaminação com asbestos e aos problemas relacionados com as técnicas de esterilização. Atualmente, os talcos utilizados na indução de pleurodese são livres de asbestos e passam por rigoroso controle de esterilização.

A prevalência variável de quadros de insuficiência respiratória após a injeção intrapleurar com diferentes tipos de talco objetivando pleurodese sugere que essa complicação poderia estar relacionada com a composição ou com o tamanho das partículas de talco. Embora o talco seja um silicato hidratado de magnésio, existe uma grande diversidade de elementos químicos na sua composição quando são analisadas as preparações provenientes dos diferentes países (44). Da mesma maneira, a análise das partículas de talco demonstrou diferenças significativas no tamanho das mesmas. É interessante ressaltar que o talco que apresenta partículas predominantemente pequenas é proveniente de países onde a prevalência relatada de insuficiência respiratória aguda, após a pleurodese, é mais alta (44). A análise das partículas através de microscopia eletrônica por varredura (MEV) demonstra variedade no espectro morfológico das

partículas dos diferentes tipos de talco avaliados, relacionando estes achados com o desenvolvimento da SDRA (45).

A hipótese de que a insuficiência respiratória ocorra pela disseminação pulmonar das partículas de talco é reforçada pelo fato de que pacientes com essa complicação apresentavam estas partículas em amostras do lavado broncoalveolar (LBA) (18, 21, 26) e na análise histológica do pulmão (18, 26). Tais achados não foram observados nos pacientes que evoluíram sem insuficiência respiratória (16). Para alguns autores, o tamanho das partículas de talco seria o fator determinante para a distribuição das mesmas. Assim, as partículas menores, por apresentarem maior facilidade de migração pelos capilares pleurais, estariam relacionadas a uma maior disseminação pulmonar e sistêmica ocasionando, portanto, os efeitos colaterais descritos (44).

Trabalhos na literatura têm relatado e demonstrado a migração de partículas de talco para órgãos distantes do local instilado, como o pulmão contralateral, o cérebro, o fígado, o baço e o rim, tanto em estudos experimentais (46, 47) como em estudos realizados em necrópsias de pacientes que fizeram uso desse agente (26).

A literatura menciona um relato de caso recente cujo paciente evoluiu para quadro de insuficiência respiratória fatal após pleurodese com talco. Entretanto, a necrópsia do paciente não demonstrou a disseminação sistêmica das partículas (28). Esse fato levanta a possibilidade de especularmos que, independentemente da disseminação sistêmica das partículas de talco, a reação inflamatória local desencadeada por este agente poderia contribuir para o desfecho sistêmico desfavorável.

Apesar das especulações, permanece desconhecido o mecanismo pelo qual o talco se dissemina dentro e fora da cavidade torácica. Takada e cols (48) sugerem que as partículas de talco alcançam o parênquima pulmonar através da quebra da barreira mesotelial, em consequência do processo inflamatório local. Outras hipóteses propõem como mecanismo de disseminação, a migração das partículas pelos estomas da pleura parietal e destes para os linfáticos (49) ou, a migração direta por invaginação da junção intercelular do mesotélio (44, 48, 50).

Igualmente desconhecemos a atuação do talco (e somente dele) na produção de inflamação pulmonar e sistêmica. Vários mediadores inflamatórios elevados no soro e no LBA têm sido relacionados ao mecanismo fisiopatológico e ao prognóstico de pacientes com SDRA de outras etiologias. Dentre eles, as interleucinas (IL) IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 e o fator de necrose tumoral (TNF- α) têm sido descritos como integrantes no desencadeamento e desenvolvimento do quadro de SDRA (51-54).

Embora alguns trabalhos relacionem o achado de partículas de talco no LBA de animais submetidos à pleurodese com talco (46), não se conhece até o momento, estudos experimentais ou em humanos onde estes mediadores inflamatórios foram avaliados no LBA.

A pleurodese quimicamente induzida em modelos experimentais permite a avaliação da pleura, do parênquima pulmonar e dos órgãos à distância. O modelo em coelhos, em especial, é bastante utilizado, pois as cavidades pleurais direita e esquerda são independentes, permitindo a avaliação da pleura, do parênquima pulmonar homolateral e contralateral à injeção do agente esclerosante e dos respectivos lavados broncoalveolares

(55-61).

Existem referências na literatura que avaliam a resposta inflamatória sistêmica desencadeada após a pleurodese induzida com talco em animais de experimentação (60). Os resultados demonstram resposta inflamatória sistêmica exacerbada com valores elevados de leucócitos e de neutrófilos no sangue e níveis séricos elevados de IL-8 e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (60, 61). Levando-se em consideração que o lavado broncoalveolar é espelho do que acontece no alvéolo pulmonar, a análise celular e de mediadores inflamatórios, como a IL-8 e o VEGF são importantes na avaliação da resposta inflamatória pulmonar aguda à injeção intrapleural de talco. Da mesma forma, a comparação dos níveis de IL-8 e VEGF no LBA de ambos os pulmões traz informações sobre o comportamento do pulmão contralateral à administração do talco intrapleural.

Considerando que no Brasil existe uma série de casos de pacientes que apresentaram SDRA com evolução para óbito após esta abordagem terapêutica (18), julgamos relevante estudar as alterações pulmonares e sistêmicas em resposta à instilação intrapleural de talco usado em prática clínica com partículas de tamanhos diversos e outro calibrado com partículas menores em modelo experimental.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

Estudar os efeitos pulmonares e sistêmicos agudos em resposta à injeção intrapleural de talco de partículas pequenas e de partículas de tamanhos variados.

O estudo compreenderá:

- A avaliação da celularidade, dos níveis de desidrogenase láctica (DHL), proteína C reativa (PCR), interleucina-8 (IL-8) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) no sangue e no LBA;

- A avaliação da presença de partículas de talco nos pulmões direito e esquerdo;

- A avaliação histológica dos pulmões quanto à presença de danos alveolares difusos.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, conforme parecer nº 004/06.

Os animais foram eutanasiados seguindo a resolução Nº 714, de 20 de junho de 2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária.

Composição dos grupos

Foram utilizados 115 coelhos *New Zealand*, pesando entre 2 e 3 Kg. Cem animais foram submetidos à injeção intrapleural com talco em suspensão (*slurry*). Em metade dos animais foi utilizado talco de partículas de tamanho pequeno (TP) e nos outros cinquenta animais foi utilizado talco misto, composto por partículas de tamanhos diversos (TM) semelhante ao usado na prática clínica. Adicionalmente, foram utilizados 15 coelhos como grupo controle, conforme distribuição abaixo:

1. Cinco animais utilizados como controle, sem injeção intrapleural de talco ou solução fisiológica e submetidos a LBA;
2. Cinco animais como controle *Sham*, submetidos à injeção intrapleural de solução fisiológica e a LBA;
3. Cinco animais utilizados como controle para a análise histológica dos pulmões, sem injeção intrapleural de talco ou solução fisiológica e não submetidos a LBA;
4. Vinte e cinco animais com injeção intrapleural de TP com coleta

de LBA;

5. Vinte e cinco animais com injeção intrapleural de TP com análise histológica dos pulmões (sem LBA);
6. Vinte e cinco animais com injeção intrapleural de TM com coleta de LBA;
7. Vinte e cinco animais com injeção intrapleural de TM com análise histológica dos pulmões (sem LBA.)

SÍNTESE DOS GRUPOS DE ESTUDO

Os animais foram eutanasiados após 6, 24, 48, 72 ou 96 horas da injeção intrapleural (5 animais para cada tempo).

Como medida de precaução para evitar a contaminação dos materiais, os experimentos foram realizados com luvas e em ambiente livres de talco, sempre pelo mesmo pesquisador.

Análise do talco com relação ao tamanho e à composição elemental das partículas

No experimento foram utilizados talcos de dois padrões. O primeiro, talco calibrado, fornecido pela empresa Sigma Aldrich (Steinheim, Germany) ($3\text{MgO}_4\text{SiO}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$), é referido pelo fabricante como composto predominantemente por partículas com tamanho inferior a $10\text{ }\mu\text{m}$ (TP). O segundo, fornecido pela empresa Magnesita (Bahia, Brasil) é o talco utilizado para a indução de pleurodese em humanos no InCor e no HCFMUSP, sendo referido como talco misto (TM), ou seja, com partículas de diferentes tamanhos (a maioria $>10\text{ }\mu\text{m}$).

Considerando que o objetivo do trabalho é avaliar os efeitos pulmonares e sistêmicos relacionados com uma possível disseminação de partículas de talco, o tamanho das partículas dos dois tipos de talco foi confirmado através de análise granulométrica por difração a *laser* (Malvern Instruments Ltda – Malvern UK) no Instituto de Pesquisas Tecnológicas da Universidade de São Paulo (IPT). A análise do tamanho das partículas de talco demonstrou que o talco de partículas pequenas (TP) apresentou D50 de $6,41\text{ }\mu\text{m}$ (50% das partículas são menores que $6,41\text{ }\mu\text{m}$), D10 de $2,19\text{ }\mu\text{m}$.

μm (10% das partículas com diâmetro menor que 2,19 μm) e D90 de 17,82 μm (90% das partículas com diâmetro menor que 17,82 μm). O talco de partículas de tamanhos diversos (TM) apresentou D50 de 21,15 μm , D10 de 6,66 μm e D90 de 52,56 μm .

A composição química das partículas de talco foi analisada no Laboratório de Poluição da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, através de espectrometria de fluorescência por Raios X (Quadro 3).

Ambas as partículas de talco foram fotografadas por Microscopia Eletrônica de Varredura no Instituto de Pesquisas Tecnológicas da Universidade de São Paulo (IPT) para visualização de sua conformação espacial e estão representadas nas figuras 1 e 2.

Quadro 2: Tamanho de partículas em μm .

Talco	D10 (μm)	D50 (μm)	D90 (μm)
TP	2,19	6,41	17,82
TM	6,66	21,15	52,56

TP – Talco de partículas pequenas, TM – talco de partículas de tamanhos diversos, D10 – 10% das partículas abaixo desse diâmetro, D50 – 50% das partículas abaixo desse diâmetro, D90 – 90% das partículas abaixo desse diâmetro.

Quadro 3: Composição elemental dos diferentes tipos de talco.

Talco	Si %	Mg %	Fe %	Al %	Ca %	Cl %
TP	64,754	26,799	5,823	2,137	0,487	---
TM	69,746	26,801	0,687	2,229	---	0,536

TP – Talco de partículas pequenas, TM – talco de partículas de tamanhos diversos, Si – silício, Mg – magnésio, Fe – ferro, Al – alumínio, Ca – cálcio, Cl – cloro.

Figura 1: Aspecto do talco de partículas pequenas (TP). Microscopia Eletrônica de Varredura (2,0 KX).

Figura 2: Aspecto do talco misto de partículas de tamanhos diversos (TM). Microscopia Eletrônica de Varredura (3,5 KX).

Injeção do esclerosante

Os animais foram anestesiados com a associação de 35 mg/kg de cloridrato de cetamina (Cristália; São Paulo, Brasil) e 5 mg/kg de cloridrato de xylasina (Bayer; São Paulo, Brasil), administrados por via intramuscular. Após a anestesia, os animais foram posicionados sobre a mesa cirúrgica e realizada a antissepsia com solução iodada no hemitórax direito (Riodeíne, Rioquímica, São Paulo). A seguir, após a identificação dos espaços intercostais, foi introduzida agulha calibre 21F (Becton-Dickson; Paraná, Brasil) acoplada a uma seringa sem êmbolo, com 4 mL de talco em suspensão na dose de 400 mg/kg. O volume total da solução foi instilado por força da pressão negativa intrapleural. O pH das soluções de talco foi previamente medido, não havendo diferença nas soluções preparadas (pH=8,4). Após a instilação, todo o sistema foi retirado evitando-se, desta maneira, a entrada de ar inadvertidamente na cavidade pleural.

Após a injeção intrapleural do talco, os animais foram monitorados para evidências clínicas de dor (vocalização, taquipnéia ou agitação). Injeções de dipirona (Ariston; São Paulo, Brasil) foram disponibilizadas para o controle da dor.

Eutanásia

Os animais foram eutanasiados com injeção letal de pentobarbital (60 mg/kg) pela veia marginal da orelha nos tempos pré-determinados de 6, 24, 48, 72 ou 96 horas.

Coleta do sangue

Imediatamente após os animais serem eutanasiados, a cavidade abdominal foi aberta e procedeu-se a coleta de sangue da veia cava inferior para a realização de hemograma, uréia, DHL, PCR e dosagem de citocinas (IL-8 e VEGF).

Coleta do lavado broncoalveolar (LBA)

A coleta do lavado broncoalveolar foi realizada após a eutanásia, iniciando-se a dissecação pela traquéia cervical. O hemitórax esquerdo do animal foi aberto e a traquéia dissecada até a carina principal. Todo o procedimento foi realizado com atenção especial em manter o hemitórax direito fechado para não haver contaminação do campo cirúrgico com o talco da pleurodese. Foi realizado reparo cirúrgico do brônquio fonte esquerdo e direito sob visualização direta. A seguir, foi realizada abertura da traquéia para colocação de catéter de oxigênio número 8 no brônquio fonte esquerdo, enquanto o brônquio fonte direito era mantido fechado pela tração do fio de reparo. Este cateter foi introduzido até o lobo inferior esquerdo sendo tracionado o fio de reparo cirúrgico para isolamento do brônquio fonte esquerdo (prevenindo-se vazamentos). Foram então instilados 20 mL de SF a 0,9%, observando-se o enchimento gradual de todo o pulmão esquerdo durante a instilação. Após a instilação total do volume, iniciou-se a recuperação manual do lavado broncoalveolar, com pressão menor que 80 mmHg. Considerou-se satisfatório, o lavado

broncoalveolar que recuperou pelo menos 50% do volume administrado. Os primeiros 5 mL de líquido recuperado foram desprezados, visando garantir a não contaminação da amostra com muco ou células de vias aéreas proximais superiores. O mesmo procedimento foi realizado no brônquio fonte direito, procedendo-se o fechamento do brônquio fonte esquerdo.

No lavado broncoalveolar recuperado foram realizadas:

Citologia quantitativa (global e diferencial);

Dosagens bioquímicas: DHL e uréia e

Dosagens Imunológicas: citocinas inflamatórias (IL-8 e VEGF) e PCR.

Coleta dos pulmões para análise histológica

Os subgrupos de animais que não foram submetidos a lavado broncoalveolar, tiveram o tórax retirado em bloco. Através da traquéia foi injetada formalina a 10% para evitar o colapso pulmonar e possibilitar a obtenção de amostras teciduais ideais para a análise histológica.

Fator de correção da diluição do lavado broncoalveolar

Para estabelecer a metodologia do procedimento de coleta do lavado broncoalveolar, foi realizado treinamento em alguns animais. Observou-se maior dificuldade de retorno do lavado broncoalveolar do pulmão direito. Devido à segmentação mais precoce à direita (brônquio do lobo superior à

direita é mais proximal que à esquerda) houve dificuldade para avançar o cateter em posição mais distal. Como resultado, as análises bioquímicas no lavado broncoalvolar à direita se mostraram mais concentradas que à esquerda. Para corrigir a concentração do lavado broncoalveolar à direita e à esquerda, foi calculado um fator de correção de diluição baseado na relação da uréia sérica e do lavado broncoalveolar. Sabendo-se que não há produção de uréia no pulmão, as dosagens de uréia no soro e no fluído que recobre o alvéolo devem ser semelhantes. Assim, utilizando o fator de correção de diluição (61-65), procuramos minimizar a interferência da diluição com solução fisiológica nas análises laboratoriais.

Citologia global e diferencial do lavado broncoalveolar e do sangue

As amostras de LBA foram coletadas em tubo cônico plástico, e as amostras de sangue foram coletadas em tubos com anticoagulante EDTA.

A contagem global de células no lavado broncoalveolar foi realizada em câmaras de contagem (tipo Neubauer) e o resultado expresso em quantidade de células nucleadas por mm^3 . Em seguida, as amostras foram centrifugadas e do sedimento obtido, foram preparadas e coradas as lâminas (coloração panóptica de Leishman) utilizadas para a citologia diferencial quantitativa. O líquido sobrenadante recuperado foi armazenado para as dosagens bioquímicas (-20°C) e imunológicas (-80°C). Um total de 200 células foi contado e a proporção de leucócitos (com diferencial), macrófagos e células epiteliais foram expressas em porcentagem. O hemograma dos animais foi realizado em equipamento automatizado (ABX,

Horiba, Micro's CRP Japão).

Dosagens bioquímicas e imunológicas no soro e no LBA

As amostras séricas para a dosagem da DHL, PCR, uréia, IL-8 e VEGF foram coletadas em tubo seco e centrifugadas a 1500 rpm por 15 minutos a 4°C. As amostras de LBA foram colhidas em tubos cônicos de plástico. O sobrenadante obtido foi utilizado para a dosagem da enzima e da uréia através de método cinético UV semi-automatizado e colorimétrico, respectivamente (Wiener Lab, Rosário, Argentina) (Anexo A).

Parte do sobrenadante das amostras foi separada, aliquotada e armazenada em freezer a -80°C para dosagem posterior das citocinas e da PCR.

A PCR foi quantificada pelo método de imunoaglutinação (Wiener Lab, Rosário, Argentina). Neste método, as amostras positivas são tituladas realizando-se diluições seriadas e a concentração (mg/dL) é calculada multiplicando-se o maior título obtido pela sensibilidade da reação (6mg/L).

As citocinas IL-8 (OptEIA, rabbit IL-8 set; Pharmingen; San Diego, CA, USA) e VEGF (R&D Systems; Minneapolis, MN, USA) foram quantificadas pelo método de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) de acordo com o protocolo sugerido nos manuais dos fabricantes, com leitura em filtro de 450 nm (Tabela A - Anexo B). Uma curva padrão com 7 pontos, um branco da reação e um padrão de concentração conhecida foram utilizados em cada placa de leitura. Os resultados das citocinas foram expressos em pg/mL.

Os limites de detecção para a IL-8 variaram de 6,25 a 400 pg/mL e para o VEGF, de 15,6 a 2.000 pg/mL. Quando os valores excediam os limites de detecção, as amostras eram diluídas e dosadas novamente.

Análise histológica e contagem das partículas de talco nos pulmões

Para a análise histológica e contagem das partículas de talco nos pulmões foram utilizados os animais do experimento que se submeteram à injeção intrapleural de TP e TM, porém não submetidos à realização do LBA. Após 48 horas da fixação dos pulmões (lobo médio à direita e lingular à esquerda) em solução de formol os espécimes foram retirados e incluídos em parafina. Os blocos de parafina foram submetidos à corte histológico de 3 µm e corados por hematoxilina-eosina (HE) para análise por microscopia óptica.

Para a avaliação do parênquima pulmonar, considerou-se a celularidade, a presença de edema, capilarite, hemorragia, trombos, infiltrado celular e macrófagos, que são parâmetros histológicos associados ao dano pulmonar relacionado ao talco. A análise foi realizada em 10 campos sob aumento de 400 vezes e o resultado expresso em escore (de 0 a 3) de acordo com a extensão e o grau do comprometimento pulmonar (56).

As partículas de talco foram quantificadas em sistema de análise de imagens. Foram analisados 5 campos por lâmina em aumento de 400X em microscopia óptica de luz polarizada. Foi realizada a contagem do número de partículas de talco e contabilizada a área total analisada. O limite de

detecção do tamanho de partícula em microscopia óptica é de 1 a 2 μm . Os resultados foram expressos em número de partículas por centímetro quadrado de área pulmonar analisada (as tabelas apresentam os resultados em número de partículas por 100 centímetros quadrados de parênquima).

Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa de computador SigmaStat (SPSS Inc.; San Raphael, CA, USA).

Os dados foram expressos em mediana e intervalo de confiança (25 e 75%) ou média e desvio padrão.

Para a comparação entre os tipos de talco para as variáveis estudadas foi utilizado o test t-Student (variáveis com distribuição normal) ou o teste de Man-Whitney (variáveis com distribuição não-normal). Para comparação entre os achados no pulmão direito e esquerdo foi utilizado o test t-pareado (distribuição normal) ou Wilcoxon (distribuição não-normal).

A análise dos diversos tempos de cada variável, tanto no soro como no lavado broncoalveolar foi realizada utilizando-se o teste de análise de variância (ANOVA). Quando eram detectadas diferenças significativas, os testes foram complementados pelos testes de comparações múltiplas de Tukey ou Dunn.

Foi considerada diferença significativa quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

RESULTADOS

No grupo Sham foi realizada injeção intrapleural de solução salina em 5 animais. No grupo controle (sem injeção intrapleural de talco ou de salina) também foram avaliados 5 animais. Os dois grupos (Sham e controle) não apresentaram diferenças significativas entre si, para todas as variáveis estudadas. Para efeito de comparação com os grupos experimentais, no texto estão apresentadas as tabelas e gráficos referentes em comparação ao grupo controle sem injeção intrapleural de talco. Os resultados do controle Sham estão demonstrados na tabela B do Anexo C.

1 – Sangue e Lavado broncoalveolar

1.1 – Leucócitos

O número de leucócitos no sangue periférico e no LBA não mostrou diferenças significativas entre os dois tipos de talco e o grupo controle (Anexo C - Tabelas C e D). Na comparação entre os dois tipos de talco, a análise do número de leucócitos no sangue periférico não mostrou diferença para nenhum dos tempos avaliados (Anexo C - Tabela E). O número de leucócitos no LBA à direita dos animais injetados com TP apresentou-se mais elevado que no grupo TM, na maioria dos tempos avaliados, com significância estatística às 24 horas (Tabela 1). Semelhante comportamento, embora sem significância estatística, ocorreu no LBA à esquerda.

Tabela 1: Total de leucócitos/mm³ no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os grupos TP e TM.

Lavado Broncoalveolar à Direita			
	TP	TM	p
6 horas	10,4 (6,8 – 18,1)	4,0 (2,1 – 5,3)	0,066
24 horas	4,8 (2,2 – 15,4)	0,3 (0,2 – 1,0)	0,024
48 horas	1,0 (0,8 – 38,6)	4,4 (3,3 – 45,0)	0,690
72 horas	14,0 (8,0 – 42,3)	0,4 (0,4 – 6,8)	0,164
96 horas	3,0 (1,8 – 21,0)	0,2 (0,2 – 2,6)	0,247
Lavado Broncoalveolar à Esquerda			
	TP	TM	p
6 horas	5,2 (4,1 – 7,8)	3,0 (1,1 – 9,8)	0,829
24 horas	5,6 (2,1 – 7,7)	1,7 (0,2 – 6,4)	0,505
48 horas	1,4 (0,5 – 7,2)	2,1 (1,6 – 2,9)	0,841
72 horas	4,8 (2,4 – 5,3)	0,3 (0,2 – 2,1)	0,182
96 horas	5,9 (2,0 – 22,5)	0,2 (0,2 – 0,6)	0,066

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, LBA – Lavado broncoalveolar.

A leucometria tendeu a ser maior no LBA à direita quando comparado ao esquerdo para ambos os grupo (TP e TM), com significância estatística no grupo TP em 48 horas e no grupo TM em 96 horas (Tabela 2).

Tabela 2: Total de leucócitos/mm³ no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os lados direito e esquerdo.

Talco Pequeno			
	LBAD	LBAE	p
6 horas	10,4 (6,8 – 18,1)	5,2 (4,1 – 7,8)	0,117
24 horas	4,8 (2,2 – 15,4)	5,6 (2,1 – 7,7)	0,183
48 horas	1,0 (0,8 – 38,6)	1,4 (0,5 – 7,2)	0,043
72 horas	14,0 (8,0 – 42,3)	4,8 (2,4 – 5,3)	0,100
96 horas	3,0 (1,8 – 21,0)	5,9 (2,0 – 22,5)	0,053
Talco Misto			
	LBAD	LBAE	p
6 horas	4,0 (2,1 – 5,3)	3,0 (1,1 – 9,8)	0,100
24 horas	0,3 (0,2 – 1,0)	1,7 (0,2 – 6,4)	0,059
48 horas	4,4 (3,3 – 45,0)	2,1 (1,6 – 2,9)	0,066
72 horas	0,4 (0,4 – 6,8)	0,3 (0,2 – 2,1)	0,356
96 horas	0,2 (0,2 – 2,6)	0,2 (0,2 – 0,6)	0,025

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, LBA – Lavado broncoalveolar

1.2 – Neutrófilos

A exemplo dos leucócitos, o número total de neutrófilos no sangue não apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos de talco em relação ao controle (Anexo C – Tabela F). A baixa leucometria observada no LBA não permitiu a avaliação deste parâmetro.

Quando comparamos os dois grupos de talco, o percentual dos neutrófilos no sangue tendeu a ser discretamente mais elevado no grupo TP, na maioria dos tempos, mas sem significância estatística, com exceção do tempo de 72 horas que demonstrou uma elevação significativa no grupo TM (Anexo C – Tabela G).

1.3 – Fator de Correção de Diluição do Lavado Broncoalveolar

A partir do valor médio da uréia sérica e da uréia obtida no LBA, estabeleceu-se o fator de correção para ser aplicado às dosagens realizadas no LBA. Este fator correspondeu a 11,01 para o LBA à direita e 13,04 para o LBA à esquerda (Anexo C-Tabela H).

1.4 – Desidrogenase Láctica

Os níveis séricos de DHL e no LBA não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos de talco e o grupo controle, assim como entre os grupos TP e TM e os lados direito e esquerdo (Anexo C – Tabelas I, J, L, M, N).

1.5 – Proteína C Reativa

Os níveis séricos de PCR elevaram-se já nas primeiras 6 horas em ambos os grupos de estudo, mantendo-se mais elevados que o controle em todos os tempos, com significância estatística (Tabela 3). Observou-se pico sérico de PCR em 24 horas, para ambos os grupos (Figura 3). Na comparação entre os tipos de talco, os níveis de PCR séricos foram significativamente maiores no grupo TP nas primeiras 24 horas, com significância estatística ($p=0,029$) (Tabela 4).

Os níveis de PCR no LBA foram abaixo do nível de detecção para o método empregado, em ambos os grupos estudados.

Tabela 3: Níveis séricos de PCR (mg/dL) de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação com grupo controle.

Controle	12,0 (12,0 – 12,0)	
	TP	p
6 horas	48,0 (24,0 – 48,0)	0,015
24 horas	96,0 (96,0 – 102,0)	0,036
48 horas	48,0 (42,0 – 48,0)	0,008
72 horas	48,0 (30,0 – 48,0)	0,025
96 horas	24,0 (24,0 – 30,0)	0,036
	TM	p
6 horas	24,0 (24,0 – 48,0)	0,033
24 horas	48,0 (48,0 – 96,0)	0,013
48 horas	48,0 (24,0 – 48,0)	0,037
72 horas	24,0 (24,0 – 30,0)	0,036
96 horas	24,0 (24,0 – 24,0)	0,229

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, PCR – Proteína C reativa

Tabela 4: Níveis séricos de PCR (mg/dL) de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os grupos TP e TM.

	TP	TM	p
6 horas	48,0 (24,0 – 48,0)	24,0 (24,0 – 48,0)	0,580
24 horas	96,0 (96,0 – 102,0)	48,0 (48,0 – 96,0)	0,029
48 horas	48,0 (42,0 – 48,0)	48,0 (24,0 – 48,0)	0,690
72 horas	48,0 (30,0 – 48,0)	24,0 (24,0 – 30,0)	0,244
96 horas	24,0 (24,0 – 30,0)	24,0 (24,0 – 24,0)	0,730

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, PCR – Proteína C reativa

Figura 3: Evolução temporal dos níveis séricos de PCR (mg/L) de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM.

ANOVA TP- $p < 0,001$ ANOVA TM- $p = 0,015$

PCR – Proteína C reativa, TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

1.6 – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

Os níveis séricos de VEGF, assim como no LBA, elevaram-se já nas primeiras 6 horas, e mantiveram-se significativamente elevados na maioria dos tempos, em ambos os grupos estudados quando comparados ao grupo controle (Tabela 5 e 6). Entretanto, não observamos diferenças estatisticamente significantes na comparação entre os grupos TP e TM, tanto no LBA quanto no sangue (Anexo C – Tabela O e P).

Tabela 5: Níveis de VEGF (pg/mL) no sangue de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM. Comparação com grupo controle.

Controle	31,3 (31,3 – 33,3)	
	TP	p
6 horas	36,3 (34,4 – 42,6)	0,211
24 horas	63,7 (47,6 – 79,0)	0,051
48 horas	58,6 (49,9 – 63,4)	0,012
72 horas	58,3 (55,5 – 71,0)	0,003
96 horas	47,0 (41,2 – 66,1)	0,049
	TM	p
6 horas	38,9 (35,3 – 44,6)	0,143
24 horas	54,3 (52,3 – 57,5)	<0,001
48 horas	71,2 (45,3 – 85,2)	0,041
72 horas	53,2 (44,6 – 57,6)	0,023
96horas	53,6 (47,8 – 57,8)	0,005

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular.

Tabela 6: Níveis de VEGF (pg/mL) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleurar de TP ou TM. Comparação com grupo controle.

Lavado Broncoalveolar à Direita		
Controle	560,0 (439,7 – 639,1)	
TP		p
6 horas	1984,6 (917,9 – 2143,9)	0,038
24 horas	3627,0 (3184,9 – 6601,8)	0,052
48 horas	4245,1 (3798,1 – 6543,2)	0,036
72 horas	2218,1 (1649,1 – 3228,8)	0,036
96 horas	1620,6 (1001,1 – 3225,6)	0,064
TM		p
6 horas	1393,2 (1155,2 – 1574,0)	0,013
24 horas	2763,3 (1914,5 – 4683,7)	0,042
48 horas	5256,1 (4885,2 – 6745,1)	<0,001
72 horas	2836,7 (1922,2 – 3373,2)	0,019
96 horas	1852,0 (1536,2 – 2143,3)	0,011
Lavado Broncoalveolar à Esquerda		
Controle	523,7 (232,8 – 698,0)	
TP		p
6 horas	1277,4 (727,0 – 1870,2)	0,099
24 horas	3047,3 (1987,4 – 4786,8)	0,025
48 horas	3807,2 (3333,2 – 5859,1)	0,036
72 horas	1464,9 (1004,9 – 2156,9)	0,184
96 horas	1156,2 (999,2 – 1413,4)	0,076
TM		p
6 horas	853,9 (738,2 – 1282,2)	0,077
24 horas	1645,9 (1252,4 – 2374,3)	0,073
48 horas	1645,9 (1252,4 – 2374,3)	0,011
72 horas	3711,5 (2715,8 – 4931,5)	0,101
96 horas	1645,9 (711,4 – 2450,9)	0,029

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular, LBA – Lavado broncoalveolar.

Na comparação entre o lado pulmonar direito e esquerdo, o LBA apresentou níveis mais elevados de VEGF à direita em todos os tempos, com significância estatística às 6, 24 e 72 horas para o grupo TP e às 48 horas para o grupo TM (Tabela 7).

Tabela 7: Níveis de VEGF (pg/mL) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os lados direito e esquerdo.

Talco Pequeno			
	LBAD	LBAE	p
6 horas	1984,6 (917,9 – 2143,9)	1277,4 (727,0 – 1870,2)	0,021
24 horas	3627,0 (3184,9 – 6601,8)	30047,3 (1987,4 – 4786,8)	0,016
48 horas	4245,1 (3798,1 – 6543,2)	3807,2 (3333,2 – 5859,1)	0,249
72 horas	2218,1 (1649,1 – 3228,8)	1464,9 (1004,9 – 2156,9)	0,005
96 horas	1620,6 (1001,1 – 3225,6)	1156,2 (999,2 – 1413,4)	0,094
Talco Misto			
	LBAD	LBAE	p
6 horas	1393,2 (1155,2 – 1574,0)	853,9 (738,2 – 1282,2)	0,183
24 horas	2763,3 (1914,5 – 4683,7)	1645,9 (1252,4 – 2374,3)	0,079
48 horas	5256,1 (4885,2 – 6745,1)	1645,9 (1252,4 – 2374,3)	0,035
72 horas	2836,7 (1922,2 – 3373,2)	3711,5 (2715,8 – 4931,5)	0,069
96 horas	1852,0 (1536,2 – 2143,3)	1645,9 (711,4 – 2450,9)	0,990

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular, LBA – Lavado broncoalveolar

Os níveis de VEGF no sangue e no LBA variaram significativamente com o tempo, conforme mostram as figuras 4 e 5. Os níveis séricos de VEGF para o grupo TP alcançaram pico em 24 horas, enquanto que no LBA, para ambos os grupos e lados direito e esquerdo, o pico ocorreu em 48 horas.

Figura 4: Evolução temporal dos níveis séricos de VEGF (pg/mL) de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM.

ANOVA TP: $p=0,05$

ANOVA TM: $p=0,101$

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular.

Figura 5: Evolução temporal dos níveis de VEGF no LBA à direita e à esquerda de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM.

ANOVA TP à direita- $p=0,024$

ANOVA TP à esquerda- $p=0,004$

ANOVA TM à direita $p<0,001$

ANOVA TM à esquerda $p=0,003$

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular, LBA – Lavado broncoalveolar

1.7 - Interleucina 8

Os níveis de IL-8 no LBA e no sangue foram significativamente mais elevados nos grupos TP e TM quando comparados ao grupo controle (Tabelas 8 e 9).

Tabela 8: Níveis de IL-8 (pg/mL) no sangue de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação com grupo controle.

Controle	43,6 (33,2 – 78,2)	
TP		p
6 horas	819,7 (795,0 – 950,1)	<0,001
24 horas	1008,6 (323,9 – 1219,5)	0,033
48 horas	1828,7 (1746,5 – 2006,6)	<0,001
72 horas	1003,7 (891,6 – 1098,9)	<0,001
96 horas	1128,1 (927,4 – 1317,6)	<0,001
TM		p
6 horas	558,8 (445,1 – 756,8)	0,004
24 horas	805,7 (517,2 – 1542,1)	0,028
48 horas	1210,9 (1010,1 – 1312,3)	<0,001
72 horas	819,7 (623,8 – 1231,3)	<0,001
96 horas	663,2 (596,1 – 831,7)	0,032

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, IL-8 – Interleucina – 8.

Tabela 9: Níveis de IL-8 (pg/mL) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM. Comparação com grupo controle.

Lavado Broncoalveolar à Direita		
Controle	309,3 (241,0 – 391,0)	
TP		p
6 horas	2193,8 (1719,5 – 2457,2)	0,008
24 horas	2566,2 (1675,3 – 2987,2)	0,010
48 horas	1855,2 (1060,3 – 2327,1)	0,019
72 horas	1162,2 (873,6 – 1231,5)	0,001
96 horas	1539,5 (1130,2 – 1830,3)	0,013
TM		p
6 horas	905,8 (811,8 – 2335,2)	0,071
24 horas	2094,5 (841,3 – 2668,0)	0,037
48 horas	1065,9 (856,1 – 1090,6)	0,009
72 horas	641,8 (561,3 – 687,2)	0,005
96 horas	751,8 (511,1 – 897,5)	0,032
Lavado Broncoalveolar à Esquerda		
Controle	311,8 (251,8 – 315,9)	
TP		p
6 horas	1253,8 (587,4 – 1870,1)	0,060
24 horas	1775,0 (1549,3 – 2095,5)	<0,001
48 horas	1322,3 (908,9 – 1827,8)	0,022
72 horas	875,7 (585,7 – 989,9)	0,008
96 horas	1183,5 (621,9 – 1758,8)	0,024
TM		p
6 horas	868,9 (567,0 – 1583,9)	0,063
24 horas	907,7 (656,2 – 1479,3)	0,031
48 horas	553,8 (433,3 – 771,7)	0,069
72 horas	466,3 (293,8 – 795,1)	0,291
96 horas	419,8 (107,8 – 494,6)	0,757

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, IL-8 – Interleucina – 8, LBA – Lavado broncoalveolar

Na comparação entre os grupos TP e TM, observaram-se níveis significativamente mais elevados de IL-8 no grupo TP que no grupo TM, tanto no sangue como no LBA (Tabelas 10 e 11).

Tabela 10: Níveis séricos de IL-8 (pg/mL) de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os grupos TP e TM.

	TP	TM	p
6 horas	819,7 (795,0 – 950,1)	558,8 (445,1 – 756,8)	0,029
24 horas	1008,6 (323,9 – 1219,5)	805,7 (517,2 – 1542,1)	0,638
48 horas	1828,7 (1746,5 – 2006,6)	1210,9 (1010,1 – 1312,3)	0,002
72 horas	1003,7 (891,6 – 1098,9)	819,7 (623,8 – 1231,3)	0,244
96 horas	1128,1 (927,4 – 1317,6)	663,2 (596,1 – 831,7)	0,003

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, IL-8 – Interleucina – 8.

Tabela 11: Níveis de IL-8 (pg/mL) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM. Comparação entre os grupos TP e TM.

Lavado Broncoalveolar à Direita			
	TP	TM	p
6 horas	2193,8 (1719,5 – 2457,2)	905,8 (811,8 – 2335,2)	0,323
24 horas	2566,2 (1675,3 – 2987,2)	2094,5 (841,3 – 2668,0)	0,257
48 horas	1855,2 (1060,3 – 2327,1)	1065,9 (856,1 – 1090,6)	0,063
72 horas	1162,2 (873,6 – 1231,5)	641,8 (561,3 – 687,2)	0,003
96 horas	1539,5 (1130,2 – 1830,3)	751,8 (511,1 – 897,5)	0,027
Lavado Broncoalveolar à Esquerda			
	TP	TM	p
6 horas	1253,8 (587,4 – 1870,1)	868,9 (567,0 – 1583,9)	0,605
24 horas	1775,0 (1549,3 – 2095,5)	907,7 (656,2 – 1479,3)	0,017
48 horas	1322,3 (908,9 – 1827,8)	553,8 (433,3 – 771,7)	0,028
72 horas	875,7 (585,7 – 989,9)	466,3 (293,8 – 795,1)	0,127
96 horas	1183,5 (621,9 – 1758,8)	419,8 (107,8 – 494,6)	0,030

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, IL-8 – Interleucina – 8, LBA – Lavado broncoalveolar.

Comparando-se o lado pulmonar direito e esquerdo, o LBA apresentou níveis mais elevados de IL-8 à direita em todos os tempos com significância estatística às 48 horas para o grupo TP e às 96 horas para o grupo TM (Tabela 12).

Tabela 12: Níveis de IL-8 (pg/mL) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM. Comparação entre os lados direito e esquerdo.

Talco Pequeno			
	LBAD	LBAE	p
6 horas	2193,8 (1719,5 – 2457,2)	1253,8 (587,4 – 1870,1)	0,117
24 horas	2566,2 (1675,3 – 2987,2)	1775,0 (1549,3 – 2095,5)	0,183
48 horas	1855,2 (1060,3 – 2327,1)	1322,3 (908,9 – 1827,8)	0,043
72 horas	1162,2 (873,6 – 1231,5)	875,7 (585,7 – 989,9)	0,100
96 horas	1539,5 (1130,2 – 1830,3)	1183,5 (621,9 – 1758,8)	0,053
Talco Misto			
	LBAD	LBAE	p
6 horas	905,8 (811,8 – 2335,2)	868,9 (567,0 – 1583,9)	0,100
24 horas	2094,5 (841,3 – 2668,0)	907,7 (656,2 – 1479,3)	0,059
48 horas	1065,9 (856,1 – 1090,6)	553,8 (433,3 – 771,7)	0,066
72 horas	641,8 (561,3 – 687,2)	466,3 (293,8 – 795,1)	0,356
96 horas	751,8 (511,1 – 897,5)	419,8 (107,8 – 494,6)	0,025

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, IL-8 – Interleucina – 8, LBA – Lavado broncoalveolar.

Os níveis séricos de IL-8 no grupo TP elevaram-se significativamente às 48 h em relação aos demais tempos. O mesmo comportamento foi observado no grupo TM, entretanto, sem diferença significativa (Figura 6).

No grupo TP, os níveis de IL-8 no LBA à direita elevaram-se significativamente em 24 h em relação aos demais tempos. O mesmo comportamento foi observado à esquerda, entretanto, sem significância estatística. No grupo injetado com TM, os níveis de IL-8 também se elevaram significativamente em 24 h em relação aos demais tempos à direita; à esquerda observou-se queda dos níveis a partir das 24 h até às 96 h ($p=0,031$) (Figura 7).

Figura 6: Evolução temporal dos níveis séricos de IL-8 (pg/mL) de coelhos submetidos à injeção intrapleurar de TP e TM.

ANOVA TP- $p < 0,001$ ANOVA TM- $p = 0,137$

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, IL-8 – Interleucina – 8

Figura 7: Evolução temporal dos níveis de IL-8 no LBA à direita e à esquerda de coelhos submetidos à injeção de TP e TM intrapleurar.

ANOVA TP à direita- $p = 0,026$

ANOVA TP à esquerda- $p = 0,063$

ANOVA TM à direita $p = 0,022$

ANOVA TM à esquerda $p = 0,022$

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, IL-8 – Interleucina – 8, LBA – Lavado broncoalveolar.

2 – Correlações

2.1 – Correlações observadas entre os valores obtidos de IL-8, VEGF e DHL no LBA e no sangue

Em ambos os grupos de estudo (TP e TM), observamos correlações positivas e significantes entre os níveis de VEGF no sangue e no LBA (Figuras 8 e 9). Para os demais parâmetros (IL-8 e DHL) não observamos correlações significantes entre o lavado broncoalveolar e o sangue.

Figura 8: Correlação entre os níveis de VEGF (pg/mL) do sangue e do LBA à direita e à esquerda no grupo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP.

TP - talco de partículas pequenas, VEGF – Fator de crescimento do endotélio vascular, LBA – Lavado broncoalveolar

Figura 9: Correlação entre os níveis de VEGF (pg/mL) do sangue e do LBA à direita e à esquerda no grupo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TM.

TM - talco de partículas de tamanhos diversos, VEGF – Fator de crescimento do endotélio vascular, LBA – Lavado broncoalveolar

2.2 - Correlação entre os valores de IL-8, VEGF e DHL obtidos no LBA à direita e à esquerda.

No estudo comparativo entre o LBA à direita e à esquerda observamos correlações positivas e significativas ($p < 0,001$) entre os níveis de IL-8 em ambos os grupos TP e TM ($r = 0,643$ e $r = 0,648$ respectivamente) (Figura 10). O mesmo comportamento foi observado quanto ao VEGF ($r = 0,929$, $r = 0,779$ e $p < 0,001$, respectivamente) (Figura 11). Com relação ao DHL, seus níveis se correlacionaram significativamente ($r = 0,627$; $p < 0,001$) entre o LBA à direita e à esquerda no grupo TP (Figura 12). Não foi observada correlação significativa para este parâmetro no grupo TM ($r = 0,051$; $p = 0,456$).

Figura 10: Correlação entre os níveis de IL-8 (pg/mL) no lavado broncoalveolar à direita e no lavado broncoalveolar à esquerda

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, IL-8 – Interleucina –8, LBA – Lavado broncoalveolar.

Figura 11: Correlação entre os níveis de VEGF no LBA à direita e à esquerda

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos, VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular, LBA – Lavado broncoalveolar.

Figura 12: Correlação entre os níveis de DHL no LBA à direita e à esquerda (grupo TP).

TP - talco de partículas pequenas, DHL – Desidrogenase láctica, LBA – Lavado broncoalveolar.

2.3 – Correlações entre os valores de IL-8, VEGF e DHL no LBA (direita e esquerda) e sangue.

Observou-se correlação positiva e significativa entre os níveis de IL-8 e VEGF no lavado broncoalveolar à esquerda dos animais injetados com TP. Embora estes parâmetros tenham se correlacionado à direita ($r=0,348$) não houve significância estatística ($p=0,0689$) (Figura 13). O mesmo comportamento não foi observado para o grupo TM que não apresentou correlações significativas. Da mesma maneira, não foram observadas correlações significativas entre VEGF, IL-8 e DHL no LBA (direita e esquerda) e no sangue.

Figura 13: Correlação entre os níveis de IL-8 e de VEGF no LBA à direita e à esquerda dos animais submetidos à injeção intrapleural de TP.

TP - talco de partículas pequenas, IL-8 – Interleucina -8, VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular, LBA – Lavado broncoalveolar

3 - Avaliação quantitativa partículas de talco nos pulmões dos animais dos grupos TP, TM e controle

Não observamos diferenças significativas no número de partículas de talco entre os grupos TP e TM e entre os lados direito e esquerdo (Figura 14 e 15; Anexo C – Tabela Q e R).

Figura 14: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TM. Presença de partículas de talco. HE com luz polarizada, aumento de 400X.

TM – talco de partículas de tamanhos diversos

Figura 15: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TP. Presença de partículas de talco. HE com luz polarizada, aumento de 400X.

TP – talco de partículas pequenas

4 – Avaliação histológica do pulmão dos animais dos grupos TP e TM e controle

Para a avaliação do parênquima pulmonar considerou-se a celularidade, a presença de edema, capilarite, hemorragia, trombos, infiltrado linfomononuclear e macrófagos (Figura 16 a 18).

Para todos os parâmetros avaliados, os animais dos grupos TP e TM apresentaram variáveis graus de alterações quando comparados ao grupo controle, com significância estatística na avaliação de celularidade, capilarite, infiltrado linfomononuclear e macrófagos em alguns tempos (Tabela 13 a 16). Para os demais parâmetros (presença de trombos, hemorragia e edema) não foram observadas diferenças entre os grupos TP e TM e o controle (Anexo C – Tabelas S a U).

Na comparação entre os grupos TP e TM, observamos maior celularidade global representada preferencialmente por células linfomononucleares no grupo TP quando comparado ao TM. As diferenças observadas com relação aos tempos estão demonstradas nas Tabelas 17 e 18. Na avaliação dos demais parâmetros não observamos significância estatística entre os grupos e nos vários tempos (Anexo C – Tabela V a BB).

Na comparação entre os pulmões direito e esquerdo, foi observada apenas prevalência discreta do pulmão direito quando avaliamos a celularidade global, a presença de capilarite e de infiltrado linfomononuclear (Tabela 19 –21). Os demais parâmetros não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ou entre os lados (Anexo C –Tabelas CC a EE)

Tabela 13: Avaliação da celularidade nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação com grupo controle.

Pulmão Direito		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
	TP	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,413
24 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,413
48 horas	2,0 (2,0 – 2,3)	0,016
72 horas	2,5 (1,5 – 3,0)	0,003
96 horas	2,0 (2,0 – 2,5)	0,029
	TM	p
6 horas	1,0 (0,0 – 2,0)	0,343
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	1,0 (0,8 – 2,0)	0,063
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	3,0 (2,3 – 3,0)	0,057
Pulmão Esquerdo		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
	TP	p
6 horas	1,0 (0,0 – 2,0)	0,190
24 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,413
48 horas	2,0 (1,8 – 2,3)	0,016
72 horas	1,0 (0,5 – 1,5)	0,114
96 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,029
	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,686
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 0,8)	0,629
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela 14: Avaliação da capilarite nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação com grupo controle.

Pulmão Direito		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
	TP	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,413
24 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,413
48 horas	2,0 (1,0 – 2,0)	0,016
72 horas	1,0 (0,5 – 2,0)	0,114
96 horas	1,0 (1,0 – 1,5)	0,029
	TM	p
6 horas	0,5 (0,0 – 1,0)	0,343
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	1,0 (0,8 – 2,0)	0,063
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	1,0 (1,0 – 2,5)	0,057
Pulmão Esquerdo		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
	TP	p
6 horas	1,0 (0,0 – 2,0)	0,190
24 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,413
48 horas	1,0 (0,8 – 2,0)	0,063
72 horas	1,0 (0,5 – 1,5)	0,114
96 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,029
	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,686
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 0,8)	0,629
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Figura 16: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TP. Presença de capilarite (C) e macrófagos (M). HE, aumento de 400X.

TM – talco de partículas de tamanhos diversos

Figura 17: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TM. Presença de macrófagos (setas). HE, aumento de 400X.

TM – talco de partículas de tamanhos diversos

Figura 18: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TP. Presença de trombo. HE, aumento de 400X.

TM – talco de partículas de tamanhos diversos

Figura 19: Fotomicrografia de parênquima pulmonar de coelho submetido à injeção intrapleural de TM. Presença de infiltrado linfomononuclear (setas). HE, aumento de 400X.

TM – talco de partículas de tamanhos diversos

Tabela 15: Avaliação da presença de infiltrado linfomononuclear nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação com grupo controle.

Pulmão Direito		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
	TP	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,413
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	2,0 (1,5 – 3,0)	0,063
72 horas	1,5 (1,0 – 2,5)	0,011
96 horas	1,0 (0,5 – 1,0)	0,114
	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	1,0 (0,0 – 1,0)	0,190
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	2,0 (1,3 – 2,0)	0,057
Pulmão Esquerdo		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
	TP	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	2,0 (0,8 – 2,3)	0,063
72 horas	0,5 (0,0 – 1,0)	0,343
96 horas	1,0 (0,5 – 1,0)	0,114
	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela 16: Avaliação da presença de macrófagos nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação com grupo controle.

Pulmão Direito		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
TP		p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,413
24 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,413
48 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,016
72 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,029
96 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,029
TM		p
6 horas	0,5 (0,0 – 1,0)	0,025
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,343
48 horas	1,0 (0,8 – 1,0)	1,000
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,063
96 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	1,000
Pulmão Esquerdo		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
TP		p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
48 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,016
72 horas	1,0 (0,5 – 1,0)	0,114
96 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,029
TM		p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 0,8)	0,629
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela 17: Avaliação da celularidade nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os grupos TP e TM.

Pulmão Direito			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	1,0 (0,0 – 2,0)	0,575
24 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
48 horas	2,0 (2,0 – 2,3)	1,0 (0,8 – 2,0)	0,095
72 horas	2,5 (1,5 – 3,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,011
96 horas	2,0 (2,0 – 2,5)	3,0 (2,3 – 3,0)	0,352
Pulmão Esquerdo			
	TP	TM	p
6 horas	1,0 (0,0 – 2,0)	0,0 (0,0 – 0,5)	0,217
24 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
48 horas	2,0 (1,8 – 2,3)	0,0 (0,0 – 0,3)	0,001
72 horas	1,0 (0,5 – 1,5)	0,0 (0,0 – 0,8)	0,286
96 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,057

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela 18: Avaliação da presença de infiltrado linfomononuclear nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os grupos TP e TM.

Pulmão Direito			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	2,0 (1,5 – 3,0)	1,0 (0,0 – 1,0)	0,048
72 horas	1,5 (1,0 – 2,5)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,027
96 horas	1,0 (0,5 – 1,0)	2,0 (1,3 – 2,0)	0,114
Pulmão Esquerdo			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	2,0 (0,8 – 2,3)	0,0 (0,0 – 0,3)	0,034
72 horas	0,5 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,203
96 horas	1,0 (0,5 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,114

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela 19: Avaliação da celularidade nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os lados direito e esquerdo.

Talco Pequeno			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	1,0 (0,0 – 2,0)	0,587
24 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,0 (0,0 – 1,3)	1,000
48 horas	2,0 (2,0 – 2,3)	2,0 (1,8 – 2,3)	0,621
72 horas	2,5 (1,5 – 3,0)	1,0 (0,5 – 1,5)	0,194
96 horas	2,0 (2,0 – 2,5)	1,0 (1,0 – 1,0)	0,125
Talco Misto			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	p
6 horas	1,0 (0,0 – 2,0)	0,0 (0,0 – 0,5)	0,215
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	1,0 (0,8 – 2,0)	0,0 (0,0 – 0,3)	0,034
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,8)	0,423
96 horas	3,0 (2,3 – 3,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,015

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela 20: Avaliação da presença de capilarite nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os lados direito e esquerdo.

Talco Pequeno			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	1,0 (0,0 – 2,0)	0,587
24 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,0 (0,0 – 1,3)	1,000
48 horas	2,0 (1,0 – 2,0)	1,0 (0,8 – 2,0)	0,178
72 horas	1,0 (0,5 – 2,0)	1,0 (0,5 – 1,5)	0,809
96 horas	1,0 (1,0 – 1,5)	1,0 (1,0 – 1,0)	1,000
Talco Misto			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	P
6 horas	0,5 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,5)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	1,0 (0,8 – 2,0)	0,0 (0,0 – 0,3)	0,034
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,8)	0,423
96 horas	1,0 (1,0 – 2,5)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,130

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela 21: Avaliação da presença de infiltrado linfomononuclear nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os lados direito e esquerdo.

Talco Pequeno			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	P
6 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,178
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	2,0 (1,5 – 3,0)	2,0 (0,8 – 2,3)	0,178
72 horas	1,5 (1,0 – 2,5)	0,5 (0,0 – 1,0)	0,194
96 horas	1,0 (0,5 – 1,0)	1,0 (0,5 – 1,0)	1,000
Talco Misto			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	P
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	1,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,3)	0,178
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	2,0 (1,3 – 2,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,038

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

O papel do talco na resposta inflamatória sistêmica e pulmonar tem sido alvo de vários estudos. As questões referentes ao aparecimento de insuficiência respiratória aguda após a instilação do talco intrapleural ainda não foram totalmente respondidas. Várias são as hipóteses relacionando os fatores inerentes às partículas de talco, sua forma de disseminação sistêmica e pulmonar e a concomitante resposta inflamatória às mesmas. Estudos experimentais e clínicos têm demonstrado a presença de partículas de talco em vários órgãos subsequente à indução de pleurodese (18, 26, 46, 47, 66). Outros trabalhos demonstram uma maior difusão de partículas relacionada à dose de talco injetada (16) ou ao diâmetro médio das partículas (44). Froudarakis e cols (67) demonstraram que a resposta inflamatória sistêmica é mais pronunciada em pacientes submetidos à toracoscopia com instilação intrapleural de talco do que naqueles pacientes submetidos somente à toracoscopia, quer seja ela diagnóstica ou terapêutica. Da mesma maneira, estudos clínicos e experimentais têm demonstrado níveis elevados de mediadores inflamatórios, como as citocinas, no soro e no líquido pleural de pacientes ou animais submetidos à indução de pleurodese por talco (61, 62, 68, 69).

Em nosso estudo, a avaliação do perfil inflamatório sérico e pulmonar em resposta à injeção intrapleural dos dois tipos de talco foi realizada através da análise da composição celular, de parâmetros bioquímicos (DHL), de dosagens imunológicas: citocinas inflamatórias (IL-8, VEGF) e PCR no sangue e no lavado broncoalveolar associados à

análise histológica do parênquima pulmonar.

Os tempos pré-definidos neste estudo para a avaliação dos efeitos agudos de injeção intrapleural de talco se basearam nos estudos clínicos conforme citação no quadro 1. Nestes trabalhos, os casos que evoluíram para insuficiência respiratória aguda apresentam descrição de sintomas de desconforto respiratório que se iniciaram de 2 a 96 horas após a instilação intrapleural do talco.

Tanto o talco de partículas pequenas, quanto o talco de partículas de tamanhos diversos, produziu resposta pulmonar e sistêmica aguda. Os níveis séricos de PCR apresentaram-se elevados desde as primeiras 6 horas após a injeção de talco intrapleural, alcançando pico em 24 horas para ambos os grupos (TP e TM). Quanto à análise do VEGF, tanto no LBA quanto no soro, os níveis elevaram-se também nas primeiras 6 horas e mantiveram-se elevados em ambos os grupos. Os níveis de IL-8 no sangue elevaram-se desde as primeiras 6 horas e alcançaram pico em 48 horas, enquanto que no LBA alcançaram pico em 24 horas, mantendo-se elevados em todos os tempos elevados em ambos os grupos. A elevação dos níveis séricos de PCR, VEGF e IL-8 a partir de 6 horas da injeção intrapleural de talco, picos em 24 e 48 horas e queda proporcional nos tempos subseqüentes sugere que a resposta sistêmica é precoce, entretanto, não sustentada.

Os níveis de IL-8 elevaram-se precocemente no lavado broncoalveolar (24 horas) quando comparados aos níveis séricos (48 horas). Resultados semelhantes foram observados por Genofre e cols (71), que avaliaram o comportamento sérico e do líquido pleural de animais com

injeção intrapleural de talco. Ambos os achados sugerem que a resposta pulmonar antecede a resposta inflamatória sistêmica.

Na avaliação dos parâmetros inflamatórios séricos e pulmonares (lavado broncoalveolar e histologia pulmonar), observamos uma resposta inflamatória aguda sistêmica e pulmonar mais pronunciada após a utilização do talco de partículas pequenas (TP), quando comparado ao talco de partículas de tamanhos diversos (TM). Os níveis séricos de PCR e os níveis séricos e no LBA de IL-8 foram mais elevados no grupo TP que no grupo TM. Estes achados de resposta inflamatória são semelhantes aos descritos em estudos anteriores (70). Maskell e cols compararam os efeitos da injeção intrapleural de tetraciclina e de talco de partículas pequenas (menores que 10 μm), através da avaliação do “clearance” pulmonar de DTPA (ácido pentético complexado com tecnécio 99m), dos níveis séricos de IL-8 e de proteína C reativa (PCR). Os autores observaram que o talco causou mais alterações pulmonares e sistêmicas que a tetraciclina. Em uma segunda parte deste mesmo estudo, o autor comparou os efeitos da injeção intrapleural de talco de partículas pequenas com a de talco calibrado (a maioria das partículas menores que 10 μm foi retirada). Os resultados desse estudo, avaliados através da medida do gradiente de pressão de oxigênio alvéolo-arterial e da PCR, demonstraram uma maior inflamação sistêmica e pulmonar com piora da troca gasosa com a utilização do talco de partículas pequenas.

No presente estudo, os níveis de IL-8 no soro e no LBA foram os principais marcadores deste processo de inflamação sistêmica aguda. Observamos níveis mais elevados de IL-8 e VEGF no lavado

broncoalveolar à direita quando comparado à esquerda, denotando uma resposta inflamatória aguda mais exacerbada à direita, para ambos os grupos de talco. Estes achados seriam esperados, uma vez que a instilação intrapleural do talco foi à direita e a hipótese é de que as citocinas produzidas no compartimento pleural à direita alcançaram o parênquima pulmonar por contigüidade, somando-se à produção a nível alveolar e sistêmico.

O comportamento destes marcadores inflamatórios foi semelhante em ambos os hemitórax quando comparados através dos resultados obtidos nos lavados broncoalveolares direito e esquerdo. Estes dados sugerem que o extravasamento de mediadores inflamatórios de pleura (primeiro sítio de agressão) possa estimular a produção pulmonar bilateralmente e depois, alcançar o sangue. Essa hipótese explicaria o caso relatado por Gil e cols onde uma paciente submetida à injeção intrapleural de talco com objetivo de pleurodese, evoluiu para insuficiência respiratória e óbito, não tendo sido encontradas partículas de talco em qualquer dos órgãos durante necrópsia (28).

Para que pudéssemos comparar os níveis de IL-8 e VEGF do sangue e do LBA, foi necessária a utilização do fator de correção da diluição do LBA. Após a correção, obtivemos níveis pulmonares mais elevados que os níveis séricos, sugerindo mais uma vez que o pulmão é o órgão principal da resposta inflamatória sistêmica aguda.

As correlações entre os níveis de IL-8 e VEGF em ambos os grupos do estudo e em ambos os hemitórax, refletem uma reação conjunta dos pulmões à agressão pleural à direita. Apesar dos níveis de IL-8 e VEGF

serem maiores à direita, as correlações sugerem que após a injeção intrapleural os pulmões passam a responder como órgão único à agressão.

Os resultados séricos observados com relação à celularidade, IL-8 e de VEGF, são semelhantes aos observados em estudos prévios como maior resposta inflamatória sistêmica após a injeção intrapleural de talco de partículas pequenas (61, 62).

A presença de partículas de talco em tecidos intra e extratorácicos foi objeto de estudo de diversos autores. Ferrer e cols discutem que as partículas pequenas de talco poderiam passar com maior facilidade pelos estomas linfáticos pleurais (diâmetro de 6,2 μm em adultos humanos) alcançando, assim, os vasos linfáticos e depois a circulação sistêmica (45). Desta maneira, a insuficiência respiratória aguda seria causada por uma resposta inflamatória sistêmica e pulmonar após o contato com as partículas de talco. Em nosso estudo, observamos partículas de talco em ambos os pulmões, com os dois tipos de talco, sem diferença significativa entre os grupos. Esses achados sugerem que o provável mecanismo de migração das partículas de talco para os pulmões seja através da circulação sistêmica. Entretanto, cabe ressaltar a limitação do método utilizado para a quantificação das partículas. A quantificação de partículas no sistema digital de análise de imagens não permite a detecção de partículas de talco de diâmetro inferior a 2 μm . Como estas partículas são mais prevalentes no talco de partículas pequenas, esta quantidade poderia estar subestimada neste grupo, levando a uma conclusão errônea de que a dispersão de partículas é semelhante nos dois grupos.

O número de animais nos grupos de estudo, talvez possa ter

contribuído para o não alcance metodológico de um padrão histológico que diferenciasse os grupos de estudo. O infiltrado celular do tipo linfomononuclear foi o padrão histológico mais observado nos pulmões dos animais submetidos à injeção intrapleurar de TP, refletindo um processo inflamatório mais proeminente e precoce neste grupo. Vargas e cols mostraram que a resposta inflamatória pulmonar precoce foi menor após a administração de talco do que após a administração de nitrato de prata. Entretanto, após um mês, o comportamento celular do parênquima pulmonar era semelhante com os dois agentes utilizados (56). É possível que a sensibilidade de detecção das alterações histológicas empregadas neste estudo não foi suficiente para refletir as alterações inflamatórias que foram observadas no soro e no lavado broncoalveolar.

Quando analisamos esses resultados à luz dos estudos de SDRA, podemos levantar algumas considerações. Segundo Meduri, a maioria dos pacientes com SDRA (independente da causa) apresenta níveis séricos mais elevados de IL-8, IL-1 β e IL-6 nas primeiras 24 horas da instalação do quadro (51, 52). Os indivíduos que persistem com os níveis séricos elevados destas citocinas geralmente evoluem para óbito, enquanto que aqueles que apresentam redução dos níveis a partir de 48 horas, geralmente evoluem para resolução. A relação entre os níveis de citocinas no LBA e no sangue tende a permanecer elevada nos indivíduos com SDRA, sugerindo ser pulmonar a origem da resposta inflamatória na SDRA. Os tempos de elevação e queda destes marcadores são semelhantes aos achados em nosso estudo. Embora a relação entre os níveis de IL-8 LBA e no sangue tenha permanecido elevada nos tempos

avaliados no experimento, nenhum animal apresentou sinais ou sintomas compatíveis com SDRA..

Os níveis mais elevados de IL-8 no sangue e no LBA dos animais do grupo TP quando comparados aos do grupo TM nos permitem inferir que o tamanho das partículas de talco influi na resposta inflamatória pulmonar e sistêmica. Os mecanismos pelos quais essa resposta ocorre ainda não estão totalmente esclarecidos e carecem de mais estudos dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos.

Por último, é interessante ressaltar que a despeito de uma composição química semelhante entre os dois tipos de talco, o talco de partículas pequenas apresentou uma maior percentagem de ferro em sua constituição (5,823% versus 0,687%). Estudos experimentais utilizando fibras de asbesto, com ferro em sua composição (crocidolita), mostraram aumento na resposta inflamatória e maior dano celular quando comparadas às fibras que não apresentavam ferro em sua composição (crisotila) (72,73). Entretanto, não existem trabalhos na literatura que relacionem uma possível correlação entre a composição química do talco e a resposta inflamatória local ou sistêmica desencadeada após a sua utilização para a indução de pleurodese. Também não há registro na literatura da avaliação da composição química do talco nos estudos que referem uma maior incidência de SDRA com sua utilização. Faz-se necessária uma avaliação deste achado, analisando a resposta inflamatória sistêmica e pulmonar ao talco com maior porcentagem de ferro na sua composição. Da mesma forma é importante avaliar a composição do talco utilizado nos países onde a incidência da SDRA é mais alta.

Os achados deste estudo, em concordância com outros estudos prévios na literatura, nos permitem sugerir que o talco calibrado com partículas maiores deva ser utilizado na prática clínica, objetivando uma pleurodese mais segura e livre dos efeitos adversos mencionados, fatais em alguns casos.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

A maioria dos parâmetros avaliados apresentou níveis mais elevados no sangue e no lavado broncoalveolar dos animais injetados com talco pequeno ou misto quando comparados ao grupo controle, sugerindo uma resposta sistêmica e pulmonar à injeção intrapleural de talco.

Dentre os parâmetros que mostraram diferenças significativas entre os grupos de talco (TP e TM), destacamos o PCR e a IL-8. Ambos os marcadores apresentaram níveis séricos e no lavado broncoalveolar mais elevados no grupo injetado com talco pequeno quando comparado ao grupo injetado com talco misto.

Embora a presença de partículas de talco tenha sido observada na maioria das lâminas de pulmão analisadas, não detectamos diferenças significativas em sua quantidade com relação aos dois tipos de talco (TP e TM) e aos lados pulmonares (direito e esquerdo).

A análise histológica dos pulmões revelou uma tendência a um maior infiltrado celular linfomononuclear nos lados direito e esquerdo dos animais injetados com TP quando comparados aos do grupo TM. Embora outras alterações histológicas tenham ocorrido, elas não diferiram significativamente entre os grupos TP e TM.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Light RW, Vargas FS. Pleural sclerosis for the treatment of pneumothorax and pleural effusion. *Lung* 1997; 175: 213-23.
- 2 - Rodriguez-Panadero F, Antony VB. Pleurodesis: state of art. *Eur Respir J* 1997;10:1648-54.
- 3 – Light RW. *Pleural Diseases*, 4th ed Baltimore, MD: Lippincott, Williams & Wilkins 2001.
- 4 - Lee YCG, Baumann MH, Maskell NA et al. Pleurodesis practice for malignant pleural effusions in five English-speaking countries. Survey of pulmonologists. *Chest* 2003; 124: 2229-38.
- 5 - Kennedy L, Sahn SA. Talc pleurodesis for the treatment of pneumothorax and pleural effusion. *Chest* 1994; 106: 1215-22.
- 6 - Kennedy L, Strange C, Ginsberg RJ et al. Pleurodesis using talc slurry. *Chest* 1994; 106: 342-6.
- 7 - Zimmer PW, Hill M, Casey K et al. Prospective randomized trial of talc slurry vs bleomycin in pleurodesis for symptomatic malignant pleural effusions. *Chest* 1997; 112: 430-4.
- 8 - Vargas FS, Wang NS, Teixeira LR et al. *Corynebacterium parvum* versus tetracycline as pleural sclerosing agents in rabbits. *Eur Respir J* 1995; 8:2174-7.
- 9 – Paschoalini MS, Vargas FS, Marchi E et al. Prospective randomized trial of silver nitrate vs talc slurry in pleurodesis for symptomatic malignant pleural effusions. *Chest* 2005; 128:684-9.
- 10 – Ong KC, Indumathi V, Raghuram J et al. A comparative study of

pleurodesis using talc slurry and bleomycin in the management of malignant pleural effusions. *Respirology* 2000; 5: 99-103.

11 – Noppen M, Degreve J, Mignolet M et al. A prospective, randomized study comparing the efficacy of talc slurry and bleomycin in the treatment of malignant pleural effusions. *Acta Clin Belg* 1997; 52-5:258-62.

12 – Diacon AH, Wyser C, Bolliger CT et al. Prospective randomized comparison of thoracoscopic talc poudrage under local anesthesia versus bleomycin instillation for pleurodesis in malignant pleural effusions. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1445-9.

13 – Foresti V, Villa A. *Corynebacterium parvum* pleurodesis. *Chest* 1995; 107: 291-2.

14 - Walker-Renard PB, Vaughan LM, Sahn SA. Chemical pleurodesis for malignant pleural effusions. *Ann Intern Med* 1994; 120: 56-64.

15 - Vargas FS, Carmo AO, Teixeira LR et al. A New look at old agents for pleurodesis: nitrogen mustard, sodium hydroxide, and silver nitrate. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 2000; 6: 281-286.

16 - Montes, JF, Ferrer J, Villarino MA et al. Influence of talc dose on extrapleural talc dissemination after talc pleurodesis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168:348-55.

17 - Antony VB, Loddenkemper R, Astoul P et al. Management of malignant pleural effusions. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1987-2001.

18 - Campos JRM, Vargas FS, Werebe EC, et al. Thoracoscopy talc poudrage. A 15-year experience. *Chest* 2001; 119: 801-6.

19 – Shaw P, Agarwal R. Pleurodesis for malignant pleural effusions. *Cochrane Library*, Issue 1, 2006. Oxford: Update Software.

- 20 – Rinaldo JE, Owens GR, Rogers RM. Adult respiratory distress syndrome following intrapleural instillation of talc. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 85: 523-6.
- 21 – Bouchama A, Chastre J, Gaudichet A et al. Acute pneumonitis with bilateral peural effusion after talc pleurodesis. *Chest* 1984; 86:795-97.
- 22 - Rehse DH, Aye RW, Florence MG. Respiratory failure following talc pleurodesis. *Am J Surg* 1999; 177(5): 437-40.
- 23 - Weissberg D, Ben-Zeev I. Talc pleurodesis: experience with 360 patients. *Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106: 689-695.
- 24 - Dresler CM, Olak J, Herndon JE et al. Phase III Intergroup study of talc poudrage vs talc slurry sclerosis for malignant pleural effusion. *Chest* 2005; 127:909-15.
- 25 - Viallat JR, Rey F, Astoul P et al. Thoracoscopic talc poudrage pleurodesis for malignant effusions: a review of 360 cases. *Chest* 1996; 110:1387-93.
- 26 - Campos JRM, Werebe EC, Vargas FS et al. Respiratory failure due to insufflated talc. *Lancet* 1997; 349: 251-2.
- 27 – Brant A, Eaton T. Serious complications with talc slurry pleurodesis. *Respirology* 2001; 6:181-5.
- 28 - Gill AJ, Mathur MN, Tattersall SF. Systematic response to talc pleurodesis. *Coment. Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 1074-5.
- 29 - Aelony Y. Systematic response to talc pleurodesis. *Coment. Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169:1074-75.
- 30 – Light RW. Talc for pleurodesis? *Chest* 2002; 122: 1506-8.
- 31 - Aelony Y, King, RR, Boutin C. Thoracoscopic talc poudrage in

malignant pleural effusions. Effective pleurodesis despite low pleural pH. Chest 1998; 113: 1007-12.

32 – Aelony Y, Yao JF. Prolonged survival after talc poudrage for malignant pleural mesothelioma: Case series. Respirology 2005; 10: 649 – 55.

33 – Almind M, Lange P, Viskum K. Spontaneous pneumothorax: comparison of simple drainage, talc pleurodesis, and tetracycline pleurodesis. Thorax 1989; 44: 627-30.

34 – Webb WR, Ozmen V, Moulder PV et al. Iodized talc pleurodesis for the treatment of pleural effusions. J Thorac Cardiovasc Surg 1992; 103: 881-6.

35 – Yim APC, Chung SS, Lee TW et al. Thoracoscopic management of malignant pleural effusions. Chest 1996; 109: 1234-8.

36 – Danby CA, Adebajo SA, Moritz DM. Video-assisted talc pleurodesis for malignant pleural effusions utilizing local anesthesia and sedation. Chest 1998; 113:739-42.

37 – Marom EM, Patz EF, Erasmus JJ et al. Malignant pleural effusion: treatment with small-bore-catheter thoracostomy and talc pleurodesis. Radiology 1999; 210: 277-81.

38 – Cardillo G, Facciolo F, Carbone L et al. Long-term follow-up of video-assisted talc pleurodesis in malignant recurrent pleural effusions. Eur J Cardiothorac Surg 2002; 21:302-6.

39 – Cardillo G, Carleo F, Giunti R et al. Videothoroscopic talc poudrage in primary spontaneous pneumothorax: A single-institution experience in 861 cases. J Thorac Cardiovasc Surg 2006; 131: 322-8.

40 – Kolschmann S, Ballin A, Gillisen A. Clinical efficacy and safety of thoracoscopic talc pleurodesis in malignant pleural effusions. Chest 2005;

128: 1431-5.

41 – Gasparri R, Leo F, Veronesi G et al. Video-assisted management of malignant pleural effusion in breast carcinoma. *Cancer* 2006; 106:271-6.

42 – Bernard GR, Artigas A, Brigham KL et al. The American-European consensus conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149:818-24.

43 – Ferrer J. Systematic response to talc pleurodesis. *Coment. Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 1074-5.

44- Ferrer J, Montes JF, Villarino MA et al. Influence of particle size on extrapleural talc dissemination after talc slurry pleurodesis. *Chest* 2002; 122: 1018-27.

45 – Ferrer J, Villarino MA, Tura JM et al. Talc preparations used for pleurodesis vary markedly from one preparation to another. *Chest* 2001; 119: 1901-1905.

46 - Werebe EC, Pazetti, Campos JRM et al. Systemic distribution of talc after intrapleural administration in rats. *Chest* 1999; 115: 190-193.

47 – Fraticelli A, Robaglia-Schlupp A, Riera H et al. Distribution of calibrated talc after intrapleural administration. An experimental study in rats. *Chest* 2002; 122:1737-41.

48 - Takada K, Otsuky Y, Magari S. Lymphatics and pre-lymphatics of the rabbit pericardium and epicardium with special emphasis on particulate absorption and milk spot-like structures. *Lymphology* 1991; 24: 116-124.

49 – Miserocchi G. Physiology and pathophysiology of pleural fluid turnover. *Eur. Respir J.* 1997; 10: 219:25.

- 50 – Wang QX, Ohtani O, Saitoh M et al. Distribution and ultrastructure of the stomata connecting the pleural cavity with lymphatics in the rat costal pleura. *Acta Anat* 1997; 158: 255-65.
- 51 - Meduri GU, Headley S, Kohler G et al. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 β and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. *Chest* 1995; 107:1062-73.
- 52 – Meduri GU, Kohler G, Headley S et al. Inflammatory cytokines in the BAL of patients with ARDS. Persistent elevation over time predicts poor outcome. *Chest* 1995; 108:1303-14.
- 53- Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C et al. Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999; 282:54-61.
- 54 - Martin TR. Cytokines and lung injury: Searching for useful biomarkers. *Crit Care Med* 2005; 33: 230-2.
- 55 - Parsons PE, Eisner MD, Thompson BT et al. Lower tidal volume ventilation and plasma cytokine markers of inflammation in patients with acute lung injury. *Crit Care Med* 2005; 33:1-6.
- 56 – Vargas FS, Teixeira LR, Antonangelo L et al. Experimental pleurodesis in rabbits induced by silver nitrate or talc. 1 Year follow-up. *Chest* 2001; 119:1516-20.
- 57 – Vargas FS, Teixeira L, Vaz MAC et al. Silver nitrate is superior to talc slurry in producing pleurodesis in rabbits. *Chest* 2000; 118: 808-13.
- 58 – Teixeira LR, Vargas FS, Antonangelo L et al. Low concentration silver nitrate pleurodesis in rabbits: optimal concentration for rapid and complete

sclerosing effect. Lung 2003; 181: 353-9.

59 – Teixeira LR, Vargas FS, Acencio MMP et al. Influence of antiinflammatory drugs (methylprednisolone and diclofenac sodium) on experimental pleurodesis induced by silver nitrate or talc. Chest 2005; 128: 4041-45.

60 - Genofre EH, Vargas FS, Antonangelo L et al. Ultrastructural acute features of active remodeling after chemical pleurodesis induced by silver nitrate or talc. lung 2005; 183: 197-207.

61 - Marchi E, Vargas FS, Acencio MMP et al. Talc and silver nitrate induce systemic inflammatory effects during the acute phase of experimental pleurodesis in rabbits. Chest 2004; 125: 2268-77.

62 – Marchi E, Vargas FS, Teixeira LR et al. Intrapleural low-dose silver nitrate elicits more pleural inflammation and less systemic inflammation than low dose talc. Chest 2005; 128: 1798-1804.

63 - Rennard SI, Basset G, Lecossier D et al. Estimation of volume of epithelial lining fluid recovered by lavage using urea as marker of dilution. J Appl Physiol 1986; 60: 532-538.

64 - Hening NR, Tonelli MR, Pier MV et al. Sputum induction as a research tool for sampling the airways of subjects with cystic fibrosis. Thorax 2001; 56: 306-311.

65 - Orphanidou D, Stratakos G, Rasidakis A et al. Adenosine deaminase activity and lysosyme levels in bronchoalveolar lavage fluid in patients with pulmonary tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 1998; 2(1): 147-152.

66 – Kennedy L, Harley RA, Sahn SA et al. Talc slurry pleurodesis. Pleural fluid and histologic analysis. Chest 1995; 107: 1707-12.

- 67 – Froudarakis ME, Klimathianaki M, Pougounias M. Systemic inflammatory reaction after thoracoscopic talc poudrage. *Chest* 2006;129:356 -361.
- 68 – van den Heuvel MM, Smit HJM. Barbierato SB et al. Talc-induced inflammation in the pleural cavity. *Eur Respir J* 1998; 12: 1419-1423.
- 69 – Nasreen N, Hartman DL, Mohammed KA et al. Tal-induced expression of C-C and C-X-C chemokines and intercellular adhesion molecule-1 in mesothelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158: 971-978.
- 70 – Maskell NA, Lee YG, Gleeson FV et al. Randomized trials describing lung inflammation after pleurodesis with talc of varying particle size. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 377-382.
- 71 – Genofre EH. Avaliação dos efeitos do talco de diferentes tamanhos de partículas na pleurodese experimental [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2005.
- 72 – Choe N, Tanaka S, Kagan E. Asbestos fibers and interleukin-1 upregulate the formation reactive nitrogen species in rat pleural mesothelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 19:226-236.
- 73 - Liu W, Ernst JD, Broaddus VC. Phagocytosis of crocidolite asbestos induces oxidative stress, DNA damage, and apoptosis in mesothelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23 (3): 371-8.

ANEXOS

ANEXO A

As dosagens de desidrogenase láctica (DHL) e de uréia foram realizadas em aparelho bioquímico semi-automatizado Quick Lab (Drake, São Paulo, Brasil), utilizando reagentes da marca Winner Lab (Rosário, Argentina).

A técnica utilizada, para ambos os parâmetros bioquímicos, foi a cinética colorimétrica, com leitura em filtro de 340 nm. A temperatura de análise de DHL e da uréia foi de 37° C, com tempo inicial de leitura em 30 segundos. Para o DHL foram realizados 3 intervalos de leitura e para a uréia, 2 intervalos de 60 segundos cada.

O resultado final foi calculado a partir das diferenças de leitura nos intervalos e ajustados através do fator fornecido pelo fabricante.

ANEXO B

Para dosagem de IL-8 e VEGF foi utilizado o método ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) de captura (R&D System, Inc., Minneapolis, USA).

Placas com 96 poços (Costar/Corning, Inc., Cambridge, USA) foram sensibilizadas com 100µL de anticorpo monoclonal e incubadas por 18 horas a 4°C.

Posteriormente a placa foi bloqueada (para evitar ligações inespecíficas) com 300µL de solução de bloqueio (BSA 2%) e incubada por 2 horas a 37°C.

Após o bloqueio, foi adicionado 100µL por poço das amostras e dos padrões diluídos previamente em PBS. Em dois poços foi colocado somente PBS para a caracterização do branco. A placa foi incubada por 18 horas a 4°C.

Após incubação, foram adicionados 100µL do anticorpo conjugado (biotinilado) na concentração estabelecida e as placas foram incubadas por 3 horas a 37°C. Posteriormente, foram adicionados 100µL de Streptavidina HRP (1:250) por poço e incubado por 30 minutos a 37°C.

A cada etapa a placa foi lavada com tampão de lavagem (PBS + Tween 20) por 6 vezes.

A revelação foi realizada através da adição de 100µL da Solução de Revelação (H₂O₂ + Tetrametilbenzidina) por poço e incubado de 5 a 60

minutos a 37°C de acordo com cada citocina. A reação foi bloqueada acrescentando-se 50µL de H₂SO₄ 30% por poço, sob agitação lenta.

A leitura foi feita em leitor de ELISA (Power Wave, Bio-tek, USA) utilizando filtro de 450nm.

Tabela A - Concentrações dos anticorpos utilizados no método ELISA

Citocinas	Anticorpo de Captura (Sensibilização) (µg/mL)	Padrões (pg/mL)	Anticorpo de Detecção (ng/mL)
IL-8	4	6,25 – 400	20
VEGF	0,8	15.6 – 2000	25

IL-8 – Interleucina – 8, VEGF – Fator de crescimento endotelial tumoral

ANEXO C

Tabela B – Níveis de IL-8 (pg/mL), VEGF (pg/mL), DHL (U/L) e PCR (mg/L) no sangue e no lavado broncoalveolar de animais do grupo controle e do grupo Sham.

Lavado Broncoalveolar à Direita			
	Controle	Controle Sham	p
IL-8	309,3 (241,0 – 390,7)	423,2 (279,9 – 461,6)	0,547
VEGF	560,0 (439,7 – 639,1)	576,0 (410,2 – 649,8)	0,960
DHL	1904,7 (1368,0 – 2210,3)	2345,1 (1717,6 – 2378,2)	0,557
Lavado Broncoalveolar à Esquerda			
	Controle	Controle Sham	p
IL-8	311,8 (251,8 – 315,9)	380,8 (158,0 – 459,4)	0,821
VEGF	523,7 (232,8 – 698,0)	418,8 (418,8 – 500,1)	0,931
DHL	886,7 (847,6 – 1209,5)	704,2 (674,8 – 899,8)	0,261
Sangue			
	Controle	Controle Sham	p
IL-8	43,6 (33,2 – 78,2)	71,2 (65,1 – 88,1)	0,346
VEGF	31,3 (31,3 – 33,3)	31,3 (31,3 – 31,3)	0,374
DHL	160,0 (83,5 – 375,3)	264,0 (206,3 – 278,3)	0,857
PCR	12,0 (12,0 – 12,0)	12,0 (12,0 – 21,0)	0,374

IL-8 Interleucina- 8, VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular, DHL – Desidrogenase láctica, PCR – Proteína C reativa

Tabela C: Total de leucócitos/mm³ no sangue de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM. Comparação com grupo controle

Controle	8330,0 (7775,0 – 9057,5)	
	TP	P
6 horas	9185,0 (8750,0 – 9850,0)	0,208
24 horas	6700,0 (5825,0 – 9157,5)	0,507
48 horas	7830,0 (6837,5 – 11145,0)	0,808
72 horas	6750,0 (3350,0 – 8922,5)	0,443
96 horas	10000,0 (8860,0 – 10270,0)	0,169
	TM	p
6 horas	6680,0 (5912,5 – 13997,5)	0,765
24 horas	8570,0 (6515,0 – 10585,0)	1,000
48 horas	9400,0 (7530,0 – 12845,0)	0,559
72 horas	11080,0 (9425,0 – 12510,0)	0,110
96 horas	10700,0 (9172,5 – 12807,5)	0,244

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela D – Total de leucócitos/mm³ no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação com o grupo controle.

Lavado Broncoalveolar à Direita		
Controle	2,4 (0,9 – 2,7)	
	TP	p
6 horas	10,4 (6,8 – 18,1)	0,103
24 horas	4,8 (2,2 – 15,4)	0,183
48 horas	1,0 (0,8 – 38,6)	1,000
72 horas	14,0 (8,0 – 42,3)	0,192
96 horas	3,0 (1,8 – 21,0)	0,375
	TM	p
6 horas	4,0 (2,1 – 5,3)	0,204
24 horas	0,3 (0,2 – 1,0)	0,147
48 horas	4,4 (3,3 – 45,0)	0,248
72 horas	0,4 (0,4 – 6,8)	0,393
96 horas	0,2 (0,2 – 2,6)	0,989
Lavado Broncoalveolar à Esquerda		
Controle	1,2 (0,9 – 2,0)	
	TP	p
6 horas	5,2 (4,1 – 7,8)	0,035
24 horas	5,6 (2,1 – 7,7)	0,137
48 horas	1,4 (0,5 – 7,2)	0,503
72 horas	4,8 (2,4 – 5,3)	0,075
96 horas	5,9 (2,0 – 22,5)	0,196
	TM	p
6 horas	3,0 (1,1 – 9,8)	0,393
24 horas	1,7 (0,2 – 6,4)	0,512
48 horas	2,1 (1,6 – 2,9)	0,414
72 horas	0,3 (0,2 – 2,1)	0,904
96 horas	0,2 (0,2 – 0,6)	0,052

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos, LBA – lavado broncoalveolar.

Tabela E: Total de leucócitos/mm³ no sangue de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM. Comparação entre os grupos TP e TM.

	TP	TM	p
6 horas	9185,0 (8750,0 – 9850,0)	6680,0 (5912,5 – 13997,5)	0,992
24 horas	6700,0 (5825,0 – 9157,5)	8570,0 (6515,0 – 10585,0)	0,464
48 horas	7830,0 (6837,5 – 11145,0)	9400,0 (7530,0 – 12845,0)	0,564
72 horas	6750,0 (3350,0 – 8922,5)	11080,0 (9425,0 – 12510,0)	0,055
96 horas	10000,0 (8860,0 – 10270,0)	10700,0 (9172,5 – 12807,5)	0,411

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela F: Total de neutrófilos/mm³ de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM. Comparação com grupo controle.

Controle	3441,0 (2922,0 – 4161,8)	
	TP	p
6 horas	5509,5 (3387,0 – 6135,0)	0,400
24 horas	2900,0 (2614,0 – 4314,3)	0,781
48 horas	4161,0 (2165,8 – 4883,3)	0,799
72 horas	2295,0 (1719,3 – 3401,5)	0,163
96 horas	4387,5 (1960,0 – 4692,0)	0,854
	TM	p
6 horas	4008,0 (2972,8 – 5513,5)	0,454
24 horas	2994,0 (2326,0 – 3516,5)	0,340
48 horas	2025,0 (1646,8 – 3407,5)	0,264
72 horas	3878,0 (3822,0 – 4693,8)	0,339
96 horas	3756,0 (1382,0 – 5276,8)	0,966

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela G: Total de neutrófilos/mm³ no sangue de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM. Comparação entre os grupos TP e TM.

	TP	TM	p
6 horas	5509,5 (3387,0 – 6135,0)	4008,0 (2972,8 – 5513,5)	0,682
24 horas	2900,0 (2614,0 – 4314,3)	2994,0 (2326,0 - 3516,5)	0,486
48 horas	4161,0 (2165,8 – 4883,3)	2025,0 (1646,8 – 3407,5)	0,226
72 horas	2295,0 (1719,3 – 3401,5)	3878,0 (3822,0 – 4693,8)	0,029
96 horas	4387,5 (1960,0 – 4692,0)	3756,0 (1382,0 – 5276,8)	0,829

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela H: Valor médio da uréia (mg/mL) no LBA à direita, LBA à esquerda e no sangue e cálculo do fator de diluição (fator de diluição = uréia sangue / uréia LBA).

	LBAD	LBAE	Sangue
VM da uréia	5,15	4,34	56,56
Fator de diluição	11,01	12,04	

LBA – lavado broncoalveolar

Tabela I: Níveis de DHL (U/L) no sangue de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação com grupo controle

Controle	160,0 (83,5 – 375,3)	
TP		p
6 horas	419,0 (346,3 – 722,3)	0,171
24 horas	511,0 (308,8 – 1228,8)	0,179
48 horas	264,0 (166,5 – 383,0)	0,709
72 horas	171,0 (169,5 – 310,8)	0,889
96 horas	163,0 (141,0 – 227,0)	0,655
TM		p
6 horas	545,0 (413,8 – 658,8)	0,072
24 horas	387,0 (225,8 – 742,0)	0,269
48 horas	119,0 (93,00 - 182,5)	0,556
72 horas	140,0 (99,5 – 200,0)	0,606
96 horas	140,0 (126,0 – 242,5)	0,638

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos, DHL – Desidrogenase láctica.

Tabela J: Níveis de DHL (U/L) no sangue de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os grupos TP e TM.

	TP	TM	p
6 horas	419,0 (346,3 – 722,3)	545,0 (413,8 – 658,8)	0,813
24 horas	511,0 (308,8 – 1228,8)	387,0 (225,8 – 742,0)	0,382
48 horas	264,0 (166,5 – 383,0)	119,0 (93,00 - 182,5)	0,183
72 horas	171,0 (169,5 – 310,8)	140,0 (99,5 – 200,0)	0,301
96 horas	163,0 (141,0 – 227,0)	140,0 (126,0 – 242,5)	0,893

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos, DHL – Desidrogenase láctica

Tabela L: Níveis de DHL (U/L) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação com grupo controle.

Lavado Broncoalveolar à Direita		
Controle	1904,7 (1368,0 – 2210,3)	
	TP	p
6 horas	1948,8 (712,9 – 3735,1)	0,707
24 horas	2400,2 (1032,2 – 5221,5)	0,399
48 horas	7585,9 (1475,3 – 13911,1)	0,571
72 horas	2884,6 (1896,5 – 4448,0)	0,206
96 horas	1607,5 (836,8 – 2235,0)	0,905
	TM	p
6 horas	1871,7 (924,8 – 5763,7)	0,442
24 horas	1519,4 (1136,8 – 1910,2)	0,593
48 horas	2422,2 (1070,7 – 2642,4)	0,797
72 horas	1684,5 (963,4 – 1874,9)	0,462
96 horas	1684,5 (963,4 – 1874,9)	0,328
Lavado Broncoalveolar à Esquerda		
Controle	886,7 (847,6 – 1209,5)	
	TP	p
6 horas	1004,1 (841,1 – 2180,9)	0,506
24 horas	873,7 (612,9 – 2976,4)	0,514
48 horas	1682,2 (1039,9 – 4961,7)	0,267
72 horas	1760,4 (1007,3- 3876,1)	0,302
96 horas	1232,3 (1108,4 – 1304,0)	0,440
	TM	p
6 horas	821,5 (609,6 – 2653,6)	0,508
24 horas	991,0 (632,4 – 2014,7)	0,584
48 horas	1147,5 (841,1 – 1998,4)	0,410
72 horas	1382,2 (1346,4 – 1614,7)	0,058
96 horas	743,3 (645,5 – 1476,8)	0,824

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos, DHL – Desidrogenase láctica, LBA – lavado broncoalveolar

Tabela M: Níveis de DHL (U/L) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os grupos TP e TM.

Lavado Broncoalveolar à Direita			
	TP	TM	p
6 horas	1948,8 (712,9 – 3735,1)	1871,7 (924,8 – 5763,7)	0,543
24 horas	2400,2 (1032,2 – 5221,5)	1519,4 (1136,8 – 1910,2)	0,205
48 horas	7585,9 (1475,3 – 13911,1)	2422,2 (1070,7 – 2642,4)	0,310
72 horas	2884,6 (1896,5 – 4448,0)	1684,5 (963,4 – 1874,9)	0,051
96 horas	1607,5 (836,8 – 2235,0)	1684,5 (963,4 – 1874,9)	0,429
Lavado Broncoalveolar à Esquerda			
	TP	TM	p
6 horas	1004,1 (841,1 – 2180,9)	821,5 (609,6 – 2653,6)	0,548
24 horas	873,7 (612,9 – 2976,4)	991,0 (632,4 – 2014,7)	0,561
48 horas	1682,2 (1039,9 – 4961,7)	1147,5 (841,1 – 1998,4)	0,234
72 horas	1760,4 (1007,3- 3876,1)	1382,2 (1346,4 – 1614,7)	0,301
96 horas	1232,3 (1108,4 – 1304,0)	743,3 (645,5 – 1476,8)	0,865

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos, DHL – Desidrogenase láctica, LBA – lavado broncoalveolar

Tabela N: Níveis de DHL (U/L) no LBA de coelhos submetidos á injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os lados direito e esquerdo.

Talco Pequeno			
	LBAD	LBAE	p
6 horas	1948,8 (712,9 – 3735,1)	1004,1 (841,1 – 2180,9)	0,411
24 horas	2400,2 (1032,2 – 5221,5)	873,7 (612,9 – 2976,4)	0,188
48 horas	7585,9 (1475,3 – 13911,1)	1682,2 (1039,9 – 4961,7)	0,158
72 horas	2884,6 (1896,5 – 4448,0)	1760,4 (1007,3- 3876,1)	0,652
96 horas	1607,5 (836,8 – 2235,0)	1232,3 (1108,4 – 1304,0)	0,313
Talco Misto			
	LBAD	LBAE	p
6 horas	1871,7 (924,8 – 5763,7)	821,5 (609,6 – 2653,6)	0,289
24 horas	1519,4 (1136,8 – 1910,2)	991,0 (632,4 – 2014,7)	0,613
48 horas	2422,2 (1070,7 – 2642,4)	1147,5 (841,1 – 1998,4)	0,188
72 horas	1684,5 (963,4 – 1874,9)	1382,2 (1346,4 – 1614,7)	0,628
96 horas	1684,5 (963,4 – 1874,9)	743,3 (645,5 – 1476,8)	0,169

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos, DHL – Desidrogenase láctica, LBA – Lavado broncoalveolar.

Tabela O: Níveis de VEGF (pg/mL) no sangue de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM. Comparação entre os grupos TP e TM.

	TP	TM	p
6 horas	36,3 (34,4 – 42,6)	38,9 (35,3 – 44,6)	0,752
24 horas	63,7 (47,6 – 79,0)	54,3 (52,3 – 57,5)	0,261
48 horas	58,6 (49,9 – 63,4)	71,2 (45,3 – 85,2)	0,475
72 horas	58,3 (55,5 – 71,0)	53,2 (44,6 – 57,6)	0,217
96 horas	47,0 (41,2 – 66,1)	53,6 (47,8 – 57,8)	0,746

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos, VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular, LBA – Lavado broncoalveolar

Tabela P: Níveis de VEGF (pg/mL) no LBA de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou TM. Comparação entre os grupos TP e TM.

Lavado Broncoalveolar à Direita			
	TP	TM	p
6 horas	1984,6 (917,9 – 2143,9)	1393,2 (1155,2 – 1574,0)	0,534
24 horas	3627,0 (3184,9 – 6601,8)	2763,3 (1914,5 – 4683,7)	0,242
48 horas	4245,1 (3798,1 – 6543,2)	5256,1 (4885,2 – 6745,1)	0,936
72 horas	2218,1 (1649,1 – 3228,8)	2836,7 (1922,2 – 3373,2)	0,983
96 horas	1620,6 (1001,1 – 3225,6)	1852,0 (1536,2 – 2143,3)	0,883
Lavado Broncoalveolar à Esquerda			
	TP	TM	p
6 horas	1277,4 (727,0 – 1870,2)	853,9 (738,2 – 1282,2)	0,364
24 horas	3047,3 (1987,4 – 4786,8)	1645,9 (1252,4 – 2374,3)	0,092
48 horas	3807,2 (3333,2 – 5859,1)	1645,9 (1252,4 – 2374,3)	0,442
72 horas	1464,9 (1004,9 – 2156,9)	3711,5 (2715,8 – 4931,5)	0,834
96 horas	1156,2 (999,2 – 1413,4)	1645,9 (711,4 – 2450,9)	0,277

TP – Talco de partículas pequenas, TM – Talco de partículas de tamanhos diversos, VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular, LBA – Lavado broncoalveolar

Tabela Q: Número de partículas de talco nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM. Comparação entre os grupos TP e TM (partículas/ 100 cm²).

Pulmão Direito			
	TP	TM	p
6 horas	454,3 (281,6 – 621,6)	285,1 (154,5 – 350,2)	0,175
24 horas	215,1 (151,2 – 228,9)	271,5 (219,1 – 483,1)	0,215
48 horas	255,3 (74,2 – 333,4)	382,7 (150,1 – 522,3)	0,339
72 horas	16,1 (15,3 – 56,2)	22,5 (10,3 – 92,5)	0,724
96 horas	79,3 (31,3 – 273,9)	137,2 (50,9 – 149,1)	0,726
Pulmão Esquerdo			
	TP	TM	p
6 horas	412,0 (192,0 – 430,9)	43,1 (25,7 – 191,9)	0,081
24 horas	295,4 (193,7 – 410,4)	31,1 (20,0 – 325,9)	0,528
48 horas	282,1 (69,1 – 322,6)	456,3 (341,8 – 518,7)	0,041
72 horas	9,7 (4,9 – 41,6)	18,9 (9,9 – 140,8)	0,463
96 horas	15,7 (3,9 – 23,0)	37,9 (14,3 – 133,4)	0,317

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela R: Número de partículas de talco nos pulmões de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP e TM. Comparação entre os lados direito e esquerdo (partículas/ 100 cm²).

Talco Pequeno			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	p
6 horas	454,3 (281,6 – 621,6)	412,0 (192,0 – 430,9)	0,252
24 horas	215,1 (151,2 – 228,9)	295,4 (193,7 – 410,4)	0,281
48 horas	255,3 (74,2 – 333,4)	282,1 (69,1 – 322,6)	0,995
72 horas	16,1 (15,3 – 56,2)	9,7 (4,9 – 41,6)	0,710
96 horas	79,3 (31,3 – 273,9)	15,7 (3,9 – 23,0)	0,340
Talco Misto			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	p
6 horas	285,1 (154,5 – 350,2)	43,1 (25,7 – 191,9)	0,131
24 horas	271,5 (219,1 – 483,1)	31,1 (20,0 – 325,9)	0,040
48 horas	382,7 (150,1 – 522,3)	456,3 (341,8 – 518,7)	0,603
72 horas	22,5 (10,3 – 92,5)	18,9 (9,9 – 140,8)	0,825
96 horas	137,2 (50,9 – 149,1)	37,9 (14,3 – 133,4)	0,413

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela S: Avaliação de presença de hemorragia nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação com grupo controle.

Pulmão Direito		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
	TP	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,413
24 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,413
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,686
96 horas	1,0 (0,5 – 1,0)	0,114
	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	1,0 (0,8 – 1,3)	0,063
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 1,5)	0,629
Pulmão Esquerdo		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
	TP	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,413
24 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,413
48 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,686
96 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,686
	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 0,8)	0,629
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela T: Avaliação de presença de edema nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação com grupo controle.

Pulmão Direito		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
TP		
		p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
TM		
		p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 1,5)	0,629
Pulmão Esquerdo		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
TP		
		p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,730
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
TM		
		p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela U: Avaliação de presença de trombos nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação com grupo controle.

Pulmão Direito		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
	TP	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,686
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 1,5)	0,266
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
Pulmão Esquerdo		
Controle	0,0 (0,0 – 0,0)	
	TP	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,730
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela V: Avaliação da presença de capilarite nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os grupos TP e TM.

Pulmão Direito			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,5 (0,0 – 1,0)	0,853
24 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
48 horas	2,0 (1,0 – 2,0)	1,0 (0,8 – 2,0)	0,397
72 horas	1,0 (0,5 – 2,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,114
96 horas	1,0 (1,0 – 1,5)	1,0 (1,0 – 2,5)	0,538
Pulmão Esquerdo			
	TP	TM	p
6 horas	1,0 (0,0 – 2,0)	0,0 (0,0 – 0,5)	0,217
24 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
48 horas	1,0 (0,8 – 2,0)	0,0 (0,0 – 0,3)	0,095
72 horas	1,0 (0,5 – 1,5)	0,0 (0,0 – 0,8)	0,296
96 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,057

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela X: Avaliação da presença de hemorragia nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os grupos TP e TM.

Pulmão Direito			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
24 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	1,0 (0,8 – 1,3)	0,065
72 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,629
96 horas	1,0 (0,5 – 1,0)	0,0 (0,0 – 1,5)	0,900
Pulmão Esquerdo			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,3)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
24 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
48 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,0 (0,0 – 0,3)	1,000
72 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,0 (0,0 – 0,8)	0,857
96 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,629

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela Z: Avaliação da presença de edema nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os grupos TP e TM.

Pulmão Direito			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,0 (0,0 – 0,5)	1,000
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 1,5)	0,629
Pulmão Esquerdo			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,730
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,690
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela AA: Avaliação da presença de trombos nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os grupos TP e TM.

Pulmão Direito			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,0 (0,0 – 1,5)	0,359
72 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,629
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
Pulmão Esquerdo			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,3)	0,690
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela BB: Avaliação de macrófagos nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os grupos TP e TM.

Pulmão Direito			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,5 (0,0 – 1,0)	0,905
24 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
48 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	1,0 (0,8 – 1,0)	0,690
72 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,057
96 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	1,0 (1,0 – 1,0)	1,000
Pulmão Esquerdo			
	TP	TM	p
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,413
48 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,3)	0,032
72 horas	1,0 (0,5 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,8)	0,352
96 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,057

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela CC: Avaliação de macrófagos nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3). Comparação entre os lados direito e esquerdo.

Talco Pequeno			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	P
6 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,178
24 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	1,0 (1,0 – 1,0)	1,000
72 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	1,0 (0,5 – 1,0)	1,000
96 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	1,0 (1,0 – 1,0)	1,000
Talco Misto			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	P
6 horas	0,5 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,182
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	1,0 (0,8 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,3)	0,070
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,8)	0,423
96 horas	1,0 (1,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,250

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela DD: Avaliação de hemorragia nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3).
Comparação entre os lados direito e esquerdo.

Talco Pequeno			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	P
6 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 1,3)	0,749
24 horas	0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0 – 1,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,3)	0,0 (0,0 – 0,5)	1,000
72 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,0 (0,0 – 0,5)	1,000
96 horas	1,0 (0,5 – 1,0)	0,0 (0,0 – 0,5)	0,182
Talco Misto			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	P
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	1,0 (0,8 – 1,3)	0,0 (0,0 – 0,3)	0,099
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,8)	0,423
96 horas	0,0 (0,0 – 1,5)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,423

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

Tabela EE: Avaliação de edema nos pulmões direito e esquerdo de coelhos submetidos à injeção intrapleural de TP ou de TM (escore de 0 a 3).
Comparação entre os lados direito e esquerdo.

Talco Pequeno			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	P
	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,3)	1,000
	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
	0,0 (0,0 – 0,3)	0,0 (0,0 – 0,3)	1,000
	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
Talco Misto			
	Pulmão direito	Pulmão esquerdo	P
6 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
24 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
48 horas	0,0 (0,0 – 0,5)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
72 horas	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	1,000
96 horas	0,0 (0,0 – 1,5)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,423

TP - talco de partículas pequenas, TM - talco de partículas de tamanhos diversos.

“Sou-lhe grato, principalmente, pelo privilégio que me obteve de poder --- sem demasia das ilusões, mas reverente --- levantar a voz nesse recinto, como um menino que depõe o seu brinquedo na superfície translúcida de uma água, para a qual a serenidade não é a estagnação, e cujo brilho da face viva nada rouba à projeção poderosa da profundidade”.

João Guimarães Rosa

LISTA DE TABELAS