



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS**



RUBENS DA SILVA ARAÚJO

**Estudo anatomopatológico da lesão pulmonar aguda em camundongos
tratados com extrato de *Musa paradisiaca* Linnaeus (Musaceae)**

João Pessoa – PB

2024

RUBENS DA SILVA ARAÚJO

**Estudo anatomopatológico da lesão pulmonar aguda em camundongos
tratados com extrato de *Musa paradisiaca* Linnaeus (Musaceae)**

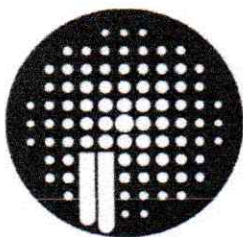
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de **Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos**.
Área de concentração: **Farmacologia**.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Francisco Alves

Coorientadora: Prof. Dra. Luciene Simões de Assis Tafuri

João Pessoa – PB

2024



PgPNSB

Pós Graduação em Produtos Naturais
e Sintéticos Bioativos

Ata da 494ª (quadringentésima nonagésima quarta) Dissertação de Mestrado do(a) aluno(a) do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Rubens da Silva Araújo**, candidato(a) ao Título de "Mestre" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacologia.

Às quatorze horas (14h00) do dia vinte e sete de agosto do ano de dois mil e vinte e quatro (27/08/2024), no Auditório Humberto Nóbrega, do Centro de Ciências da Saúde (CCS), da Universidade Federal da Paraíba, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar o(a) discente **Rubens da Silva Araújo**, candidato(a) ao Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacologia. Foram componentes da Comissão Examinadora os pesquisadores Wallace Felipe Blohem Pessoa, Ph.D em Biologia e Biotecnologia de Microrganismos, Cícero Francisco Bezerra Felipe, Ph.D em Farmacologia, Luciene Simões de Assis Tafuri, Ph.D em Patologia e Adriano Francisco Alves, Ph.D em Patologia. Sendo todos integrantes do corpo docente da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o(a) Presidente da Comissão, professor(a) Adriano Francisco Alves, após declarar os objetivos da reunião, apresentou o(a) candidato(a) **Rubens da Silva Araújo**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "Estudo anatomopatológico da lesão pulmonar aguda em camundongos tratados com extrato de *Musa paradisiaca* Linnaeus (Musaceae)". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de quarenta minutos, o(a) candidato(a) foi arguido(a) pelos examinadores na forma regimental. Em seguida, passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito APROVADO(A). Em face da aprovação, declarou o(a) Presidente achar-se o(a) examinado(a) **Rubens da Silva Araújo** legalmente habilitado(a) a receber o Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na área de concentração Farmacologia, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que o(a) mesmo(a) faz jus. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da Comissão e pelo(a) discente.

Prof. Dr. Adriano Francisco Alves (Orientador) *Adriano Francisco Alves*

Prof.^a Dr.^a Luciene Simões de Assis Tafuri (Coorientadora) *Luciene Tafuri*

Prof. Dr. Wallace Felipe Blohem Pessoa (Examinador) *Wallace Blohem*

Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe (Examinador) *Cícero Francisco B. Felipe*

Rubens da Silva Araújo (Discente) *Rubens da Silva Araújo*



Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A663e Araújo, Rubens da Silva.

Estudo anatomopatológico da lesão pulmonar aguda em camundongos tratados com extrato de *Musa paradisiaca* Linnaeus (Musaceae) / Rubens da Silva Araújo. - João Pessoa, 2024.
59 f. : il.

Orientação: Adriano Francisco Alves.

Coorientação: Luciene Simões de Assis Tafuri.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Produtos naturais - Medicamento. 2. *Musa paradisiaca* - Extrato. 3. Inflamação aguda. 4. Lesão pulmonar aguda. 5. NF-κB. 6. IL-17. 7. TNF-α. I. Alves, Adriano Francisco. II. Tafuri, Luciene Simões de Assis. III. Título.

UFPB/BC

CDU 615.32(043)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que pela sua infinita graça, me permitiu alcançar este grande passo na minha jornada acadêmica. Sei que Ele sempre estará comigo, dando forças e me guiando para conquistar cada objetivo.

À minha família, em especial aos meus pais, Claudionor e Vera, à minha irmã, Ceíça, e ao meu sobrinho, Ryan, por todo o amor, exemplo, apoio, incentivo, e por sempre acreditarem no meu potencial. Vocês são as pessoas mais importantes da minha vida. Amo vocês!

À minha avó, Dona Carminha (*in memoriam*), e ao meu irmão, Romário (*in memoriam*), que embora não estejam presentes fisicamente, estarão sempre guardados no meu coração. Dedico esta conquista a vocês, que lá de cima, estão olhando por mim.

Às minhas amigas — Amiris, Gilclea, Iaponara, Stephanie, Thais, Heivila, Giovanna, Mayara, Olga, Rayne, Mylenne, Herlanny, Larissa Xavier e Larissa Alves, com vocês a vida se torna mais leve. Sou muito grato a Deus por ter pessoas tão especiais ao meu lado, com quem posso contar e que se alegram comigo em cada conquista.

A todos os membros do Laboratório de Patologia da UFPB, obrigado pelos dias incríveis e de muito trabalho. É sempre um prazer estar com vocês!

Agradeço também à professora Márcia Piuvezam, a Allysson Gadelha e aos demais integrantes do Laboratório de Imunofarmacologia da UFPB pela parceria e suporte.

Ao meu orientador, professor Adriano, e à minha coorientadora, professora Luciene, sou profundamente grato pela confiança, apoio, ensinamentos e paciência. Vocês são grandes exemplos como profissionais e seres humanos. Tenho certeza de que fui agraciado por Deus ao tê-los em minha jornada acadêmica.

Por fim, agradeço à banca, composta pelos professores Wallace e Cícero, pela disponibilidade, paciência e pelas relevantes contribuições que enriqueceram este trabalho.

RESUMO

As doenças respiratórias representam um enorme desafio à saúde humana, dentre elas podemos destacar a lesão pulmonar aguda, que é uma doença inflamatória que afeta o parênquima pulmonar e sua progressão apresenta altas taxas de morbimortalidade. Não há tratamento efetivo para esta doença, por isso, alternativas terapêuticas são buscadas. A inflorescência da bananeira é rica em polifenóis e flavonoides, que possuem atividade anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana, justificando sua investigação neste modelo de doença. Este estudo objetivou avaliar a capacidade do extrato hidroalcóolico de *Musa paradisiaca* Linnaeus na atenuação da lesão pulmonar aguda induzida por lipopolissacarídeo em camundongos e a via de sinalização associada ao seu efeito. Para isto, 20 camundongos machos da linhagem Swiss foram divididos em 4 grupos experimentais e, após o tratamento, foram eutanasiados. Foram realizadas a macroscopia pulmonar, a microscopia com colorações de rotina e a imuno-histoquímica utilizando os anticorpos anti-NF- κ B, anti-TNF- α e anti-IL-17. Foi realizada a histomorfometria e os dados foram tabulados e analisados mediante análise de variância (ANOVA) “one way” e pós-teste de Tukey, com nível de significância estatística de 5% ($p < 0.05$). Como resultados, evidenciamos a redução da migração neutrofílica para o parênquima pulmonar, aumentando os espaços alveolares; redução da deposição de matriz extracelular rica em fibras colágenas, prevenindo a cicatrização. Além disso, foi observada a inibição da proteína NF- κ B e de seus produtos de ativação, destacando o potencial terapêutico de *Musa paradisiaca* frente à lesão pulmonar aguda devido a sua atividade anti-inflamatória.

Palavras-chave: Musaceae; Inflamação aguda; NF- κ B; TNF- α ; IL-17.

ABSTRACT

Respiratory diseases pose a significant challenge to human health, among which acute lung injury stands out as an inflammatory condition affecting lung parenchyma, with high morbidity and mortality rates associated with its progression. There is no effective treatment for this disease, which is why alternative therapeutic options are being sought. The inflorescence of the banana plant is rich in polyphenols and flavonoids, which have anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial activities, justifying its investigation in this disease model. This study aimed to evaluate the capacity of the hydroalcoholic extract of *Musa paradisiaca* Linnaeus in attenuating acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice and the signaling pathway associated with its effect. For this purpose, 20 male Swiss mice were divided into four experimental groups, and after treatment, they were euthanized. Pulmonary macroscopy, routine histological staining, and immunohistochemistry using anti-NF- κ B, anti-TNF- α , and anti-IL-17 antibodies were performed. Histomorphometry was conducted, and the data were tabulated and analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post-test, with a statistical significance level of 5% ($p < 0.05$). The results showed a reduction in neutrophil migration to the lung parenchyma, increasing alveolar spaces; a reduction in the deposition of extracellular matrix rich in collagen fibers, preventing scarring. Additionally, inhibition of the NF- κ B protein and its activation products was observed, highlighting the therapeutic potential of *Musa paradisiaca* against acute lung injury due to its anti-inflammatory activity.

Keywords: Musaceae; Acute inflammation; NF- κ B; TNF- α ; IL-17.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquematização da Lesão Pulmonar Aguda	16
Figura 2. Migração Leucocitária	17
Figura 3: Estrutura do lipopolissacarídeo.	20
Figura 4. Via de sinalização TLR4/NFκB deflagrada pelo LPS.	21
Figura 5. <i>Musa paradisiaca</i> Linnaeus (bananeira), evidenciando o mangará.....	23
Figura 6: Técnicas histológicas.....	28
Figura 7: Esquema metodológico.	30
Figura 8. Macroscopia pulmonar dos grupos experimentais	31
Figura 9. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais quanto à abertura alveolar	34
Figura 10. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais quanto ao infiltrado neutrofílico.	37
Figura 11. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais quanto à deposição da matriz extracelular	40
Figura 12. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação imuno-histoquímica contra NF-κB.....	43
Figura 13. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação Imuno-histoquímica contra TNF-α	46
Figura 14. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação Imuno-histoquímica contra IL-17.	49

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Histomorfometria dos lóbulos pulmonares	32
Gráfico 2. Histomorfometria dos cortes histológicos de pulmão quanto à abertura alveolar	35
Gráfico 3. Histomorfometria dos cortes histológicos de pulmão quanto à migração neutrofílica	38
Gráfico 4. Histomorfometria dos cortes histológicos de pulmão quanto à deposição de matriz extracelular	41
Gráfico 5. Histomorfometria de cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação imuno-histoquímica contra NF- κ B.	44
Gráfico 6. Histomorfometria de cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação Imuno-histoquímica contra TNF- α	47
Gráfico 7. Histomorfometria dos cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação Imuno-histoquímica contra IL-17.	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CD14	Cluster de Diferenciação 14
CEUA	Comitê de Ética em Uso de animais
DAMPs	Padrões moleculares associados ao dano celular
DP	Desvio padrão
EHM	Extrato hidroalcólico das inflorescências
ELISA	Ensaio imunoenzimático
EROs	Espécies reativas de oxigênio
HE	Hematoxilina e Eosina
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IKB	Inibidor de kappa B
IKK	Quinase Inibidora de kappa B
IKK α	Quinase Inibidora de kappa B alfa
IKK β	Quinase Inibidora de kappa B beta
IKK γ	Quinase Inibidora de kappa B gama
IL-17	Interleucina-17
IL-1	Interleucina-1
IP	Intraperitoneal
IRAK 1	Quinase Associada ao Receptor de Interleucina-1 1
IRAK 2	Quinase Associada ao Receptor de Interleucina-1 2
IRAK4	Quinase Associada ao Receptor de Interleucina-1 4
LBP	Proteína de ligação ao LPS

LPA	Lesão pulmonar aguda
LPS	Lipopolissacarídeo
MD-2	Molécula de Diferenciação 2
MEC	Matriz extracelular
MIF	Fator de inibição da migração
mmHg	Milímetros de mercúrio
MMPs	Metaloproteinases
MyD88	Fator de Diferenciação Mieloide 88
NF-KB	Fator de transcrição nuclear do tipo kappa B
p55	Receptor TNF tipo I
p75	Receptor de TNF tipo II
PAF	Fator de ativação plaquetária
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PEEP	Pressão expiratória final positiva
pH	Potencial hidrogeniônico
RNA	Ácido ribonucleico
SDRA	Síndrome do desconforto respiratório agudo
SG	Super Verde
TAB 1	Proteína de Ligação ao TAK1 1
TAB 2	Proteína de Ligação ao TAK1 2
TAB 3	Proteína de Ligação ao TAK1 3
TAK 1	Quinase 1 Ativada por TGF- β
TGF- β	Fator de Transformação do Crescimento tipo β
Th17	Células T helper 17

TIRAP	Proteína Adaptadora com Domínio Toll/Interleucina-1
TLR4	Receptores do tipo toll 4
TM	Tricrômico de Masson
TNF	Fator de necrose tumoral
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TRAF 6	Fator Associado ao Receptor de TNF 6
UTIs	Unidades de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 LESÃO PULMONAR AGUDA	14
2.1.1 Fisiopatologia	15
2.1.2 Tratamento.....	18
2.2 LIPOPOLISSACARÍDEO E INDUÇÃO DA LPA.....	19
2.3 <i>Musa paradisiaca</i> Linnaeus	23
3 OBJETIVOS	25
3.1 GERAL	25
3.2 ESPECÍFICOS.....	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO E ENSAIOS DE TOXICIDADE.....	25
4.2 ANIMAIS.....	26
4.3 MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA (LPA)	26
4.4 ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS PULMÕES	27
4.5 ANÁLISES HISTOLÓGICAS DA LPA	27
4.6 ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA	28
4.7 ANÁLISE MORFOMÉTRICA.....	29
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
5 RESULTADOS.....	30
5.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA	30
5.2 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA	33
5.2.1 Coloração por Hematoxilina-eosina	33
5.2.2 Coloração por Tricrômico de Masson	39
5.3 AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA.....	42
5.3.1 Avaliação Imuno-histoquímica para NF- κ B	42
5.3.2 Avaliação Imuno-histoquímica para TNF- α	45
5.3.3 Avaliação Imuno-histoquímica para IL-17	47
6 DISCUSSÃO	50
7 CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

As doenças respiratórias agudas ou crônicas, representam um enorme desafio à saúde humana, sendo responsável por altas taxas de morbimortalidade, além de impactar no crescimento econômico em nível mundial (Da Silva Pereira; Sestelo; Da Silva Lima, 2022). Vivenciamos, no contexto da pandemia da Doença Coronavírus 19 (COVID-19), o quão devastador pode ser o acometimento do sistema respiratório, onde quase 7 milhões de vidas foram ceifadas pela doença (Steckert *et al.*, 2024).

Dentre as enfermidades que acometem os pulmões, podemos destacar a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), que é a forma mais grave da lesão pulmonar aguda (LPA) e se destaca pela alta taxa de mortalidade (Su *et al.*, 2024).

Trata-se de doenças de etiologia diversificada, que causam insuficiência respiratória devido a danos às células que constituem o arcabouço alveolar dos pulmões (células epiteliais e endoteliais) e culminam no aumento da permeabilidade alvéolo-capilar, formação de edema, influxo neutrofílico e comprometimento das trocas gasosas (Shi *et al.*, 2024).

A LPA/SDRA foi descrita formalmente pela primeira vez por Ashbaugh *et al.* (1967), que a descreveram como uma síndrome que se caracteriza por um início agudo de dificuldade respiratória grave após uma lesão identificável. Os sinais incluíram complacência pulmonar reduzida, infiltrados radiográficos difusos no tórax, hipoxemia refratária ao oxigênio suplementar e dispneia.

Até o momento não há uma terapia farmacológica específica para o tratamento da LPA/SDRA. Vasodilatadores pulmonares, estatinas e corticoides demonstraram efeitos terapêuticos, mas seus benefícios terapêuticos limitados e seus efeitos colaterais fazem com que haja uma aplicação clínica restrita desses medicamentos (Zhou *et al.*, 2024).

Neste contexto, nos produtos naturais encontramos uma fonte abundante de substâncias que apresentam potencial terapêutico, dentre elas os flavonoides, que apresentam propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes fortemente descritas na literatura (Xiang *et al.*, 2024).

Diante disso, o extrato da inflorescência da *Musa paradisiaca* Linnaeus (bananeira) pode representar uma alternativa terapêutica por ser rico em polifenóis, e dentre suas diversas indicações etnofarmacológicas, podemos destacar a atividade anti-inflamatória, de acordo com a sua constituição fitoquímica (Gadelha *et al.*, 2021).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 LESÃO PULMONAR AGUDA

A Lesão pulmonar aguda (LPA) trata-se de uma doença inflamatória que afeta o parênquima pulmonar e caracteriza-se pela infiltração de neutrófilos, pelo rompimento da barreira do endotélio pulmonar, danos à integridade da membrana alvéolo-capilar, comprometimento das trocas gasosas e das propriedades mecânicas, como a redução da complacência pulmonar (Oliveira, 2019).

Os critérios de Berlim são utilizados para diagnosticar a síndrome do desconforto respiratório agudo em adultos, onde deve-se levar em consideração diversos fatores, dentre eles o tempo de 7 dias entre a lesão pulmonar aguda até o seu desenvolvimento, a oxigenação medida pela razão entre a pressão parcial de oxigênio arterial (PaO_2) e a fração de oxigênio inspirado (FiO_2) de modo a definir o grau de severidade (leve: 201 – 300 mmHg, moderada: 101 – 200 mmHg, ou grave: menor ou igual a 100 mmHg), e a avaliação do tórax por raio-X que precisa apresentar opacidade bilateral (Saguil; Fargo, 2012; Simões *et al.*, 2018).

A etiologia da LPA engloba diferentes causas, e elas podem ser divididas em pulmonares/diretas (quando acomete primeiramente os pulmões), que incluem infecções fúngicas, bacterianas ou virais, hemorragia alveolar, trauma torácico com contusão pulmonar, aspiração de conteúdo gástrico, hiperóxia e inalação de fumaça ou substâncias químicas; e extrapulmonares/indiretas (quando os pulmões são afetados secundariamente devido a um evento em outra região do corpo), que incluem sepse, transfusões múltiplas, choque hipovolêmico, queimaduras extensas, pancreatite e choque não-cardiogênico (Ferreira, 2020; Oliveira, 2019).

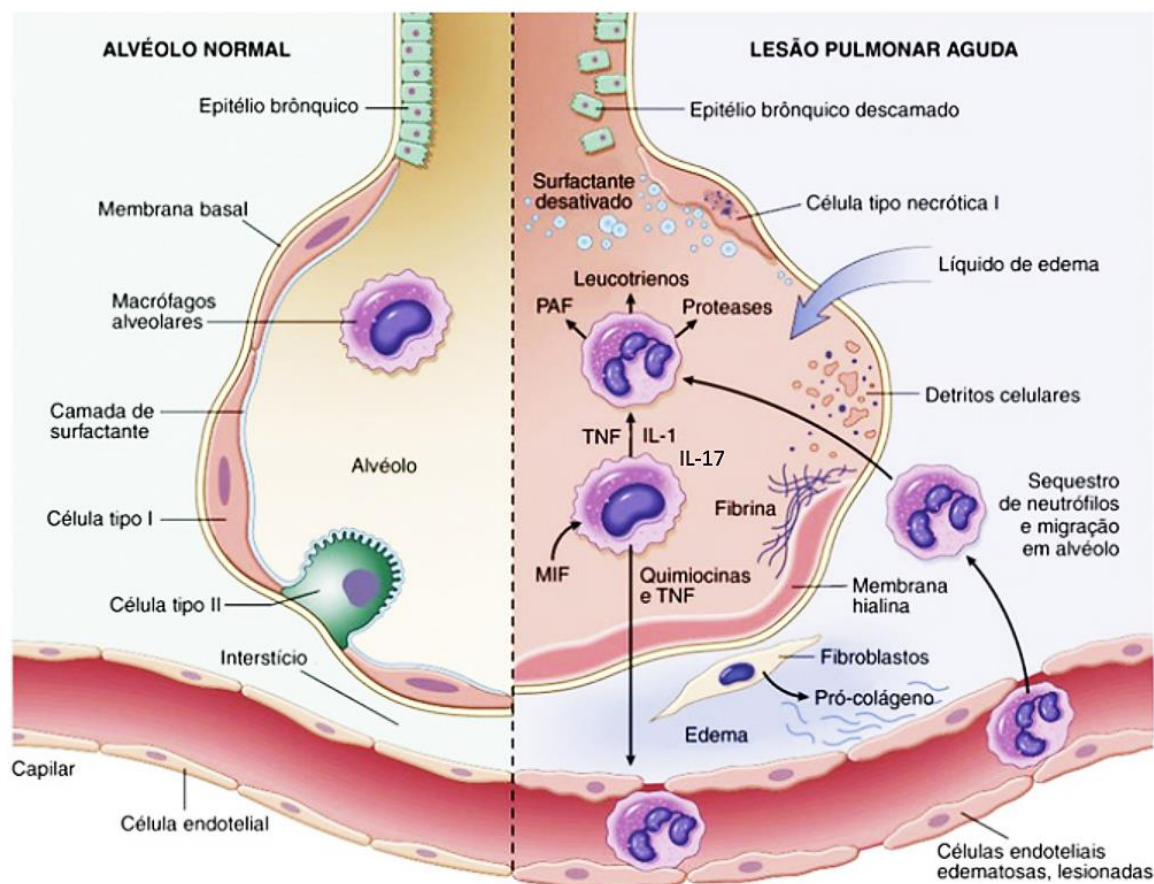
Há uma alta incidência da SDRA oriundo da LPA, ocorrendo em cerca de 10% dos pacientes internados em unidade de terapia intensiva (UTI) e 23% nos pacientes em ventilação. Além disso, no contexto da pandemia da COVID-19 houve um drástico aumento nas taxas de morbidade, um salto de 30% para 52%. Em relação às taxas de mortalidade, varia de acordo com a gravidade da doença, sendo mais alta na SDRA grave (46,1%), seguido da moderada (40,3%) e leve (34,9%) (Zhao *et al.*, 2024).

Tendo em vista a importância desta temática, estudos a respeito desta doença devem ser fomentados, de modo a prevenir possíveis complicações e reduzir as altas taxas de mortalidade. Logo, a LPA/SDRA se destaca como um grande problema para a saúde pública e necessita ser coibida (Ferreira, 2020).

2.1.1 Fisiopatologia da LPA

A Fisiopatologia da LPA envolve o aumento da permeabilidade vascular na região alveolar, edema pulmonar e fibrose intersticial, além disso, morte das células que constituem o parênquima (Macedo, 2021). A LPA evolui para a SDRA seguindo um padrão temporal de evolução: Fase exsudativa (aguda), fase proliferativa (subaguda) e fase fibrótica (tardia) (Zhao *et al.*, 2024).

Figura 1. Esquematização da Lesão Pulmonar Aguda



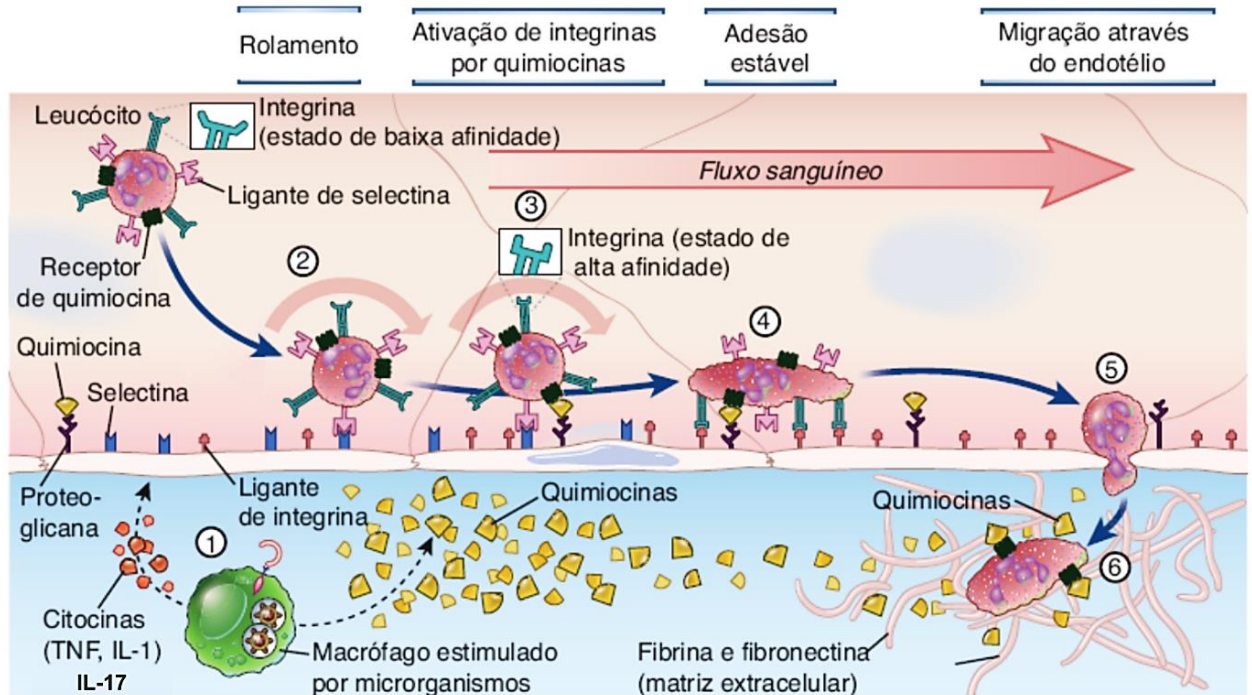
Comparação entre o alvéolo normal (à esquerda) em relação à injúria alveolar na fase inicial da LPA/SDRA. Presença de Interleucina-1 (IL-1), Interleucina-17 (IL-17), fator de inibição da migração (MIF), fator de ativação plaquetária (PAF), fator de necrose tumoral (TNF).

Fonte: Adaptado de Kumar; Abbas e Aster (2017).

A fase exsudativa/aguda (1º - 6º dia) e objeto do nosso estudo, se inicia com uma injúria pulmonar, como a causada pelo lipopolissacarídeo (agente causador de dano tecidual), e isso culmina na ativação de macrófagos alveolares através do reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) ou a dano celular (DAMPs), assim, esses macrófagos mudam para seu perfil pró-inflamatório (tipo M1) dando início a vias de sinalização como a do Fator de transcrição nuclear do tipo kappa B (NF- κ B) e passando a produzir várias citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-8, quimiocinas, dentre outros), que vão atuar no endotélio vascular de modo a aumentar a expressão de moléculas de adesão (selectinas e integrinas), permitindo então o influxo leucocitário, com predomínio de neutrófilos (**Figura 2**). Além disso, irão

aumentar a permeabilidade vascular levando ao quadro de exsudação proteica, gerando então edema intersticial (Zhao *et al.*, 2024; Bernardo, 2022).

Figura 2. Migração Leucocitária



Fonte: adaptado de Abbas; Lichtman e Pimm (2015).

Os neutrófilos contribuem para a destruição do arcabouço alveolar pela liberação de vários mediadores inflamatórios, espécies reativas de oxigênio (EROs), proteinases, peptídeos antimicrobianos, formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos para dissolução das junções estreitas, e esses fatores em associação culminam na morte das células que compõem o parênquima pulmonar por necrose e apoptose. A morte celular destes constituintes prejudica diversas funções fisiológicas, como as trocas gasosas realizadas pelos pneumócitos tipo I e a secreção de surfactante pelos pneumócitos tipo II, substância que impede o colapso dos alvéolos (Zhao *et al.*, 2024; Ferreira, 2020; Yang *et al.*, 2021).

O edema intersticial nos alvéolos ocorre após a ruptura da barreira alvéolo-capilar, permitindo a infiltração de macromoléculas, como proteínas. O exsudato inflamatório resultante interfere na função do surfactante, promovendo sua disfunção. A perda dos canais iônicos epiteliais dificulta a reabsorção do edema, e o acúmulo de líquido e restos celulares contribui para a formação de membranas hialinas. Este

processo leva ao colapso alveolar e compromete as trocas gasosas, resultando em hipóxia (Bernardo, 2022).

Mediada pelo Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), a expressão do fator tecidual pelo endotélio e epitélio ativados e lesados geram coagulação intravascular e intra-alveolar de maneira desregulada, agregação plaquetária e microtrombos, além da formação de membrana hialina ao longo das membranas basais, que se forma pela deposição de fibrina e seus produtos de degradação, colaborando então com a evolução da doença (**figura 1**) (Maggi, 2022).

Durante a fase proliferativa (7^o - 14^o dia), os macrófagos mudam seu fenótipo para o tipo M2 (anti-inflamatório), tende a ocorrer a reabsorção do edema pelo retorno dos canais iônicos e aquaporinas, e também a remoção das células inflamatórias, mas, para que isso ocorra, deve haver um reparo eficaz das barreiras epiteliais e endoteliais pelos pneumócitos tipo II que se diferenciam em tipo I, reestabelecendo a estrutura do parênquima e consequentemente a produção do surfactante. Vai acontecendo a deposição de uma matriz provisória rica em fibronectina/fibrina ao longo das membranas basais desnudas, e isso favorece o acúmulo e proliferação de fibroblastos para que possam realizar o processo de reparo. Caso a resolução da LPA não ocorra nesta fase, a doença avançará para a fase fibrótica, ocorrendo uma alta expressão do Fator de Transformação do Crescimento tipo β (TGF- β), consequente fibrose e redução da complacência pulmonar (Zhao *et al.*, 2024; Bernardo, 2022; Ferreira, 2020).

2.1.2 Tratamento da LPA

Atualmente, a intervenção não farmacológica mais utilizada para tratar a SDRA é a ventilação mecânica, mas esta técnica não é isenta de riscos, pois caso ocorra a exposição a níveis não fisiológicos de oxigênio, isto pode trazer problemas para o indivíduo, desencadeando danos alveolares capazes de gerar uma lesão pulmonar aguda por hiperóxia (Dias-Freitas; Metelo-Coimbra; Roncon-Albuquerque Jr, 2016).

Além disso, outras intervenções não farmacológicas podem ser empregadas, como: utilização de pressão expiratória final positiva (PEEP), manobras de

recrutamento, remoção extracorpórea de dióxido de carbono (CO₂) e o gerenciamento de fluidos (Silva *et al.*, 2024; Ferreira, 2020).

Até o momento, não há um tratamento da LPA/SDRA, a farmacoterapia encontra-se limitada principalmente ao uso de corticoides, que por sua vez, têm como efeito colateral a retenção de líquidos, o que pode levar à congestão pulmonar (Liu *et al.*, 2022). Algumas meta-análises os associaram a redução da mortalidade e outras não mostraram um efeito convincente, e isso talvez por não haver dose ideal, duração de tratamento e o momento certo de utilizar (Reis *et al.*, 2016).

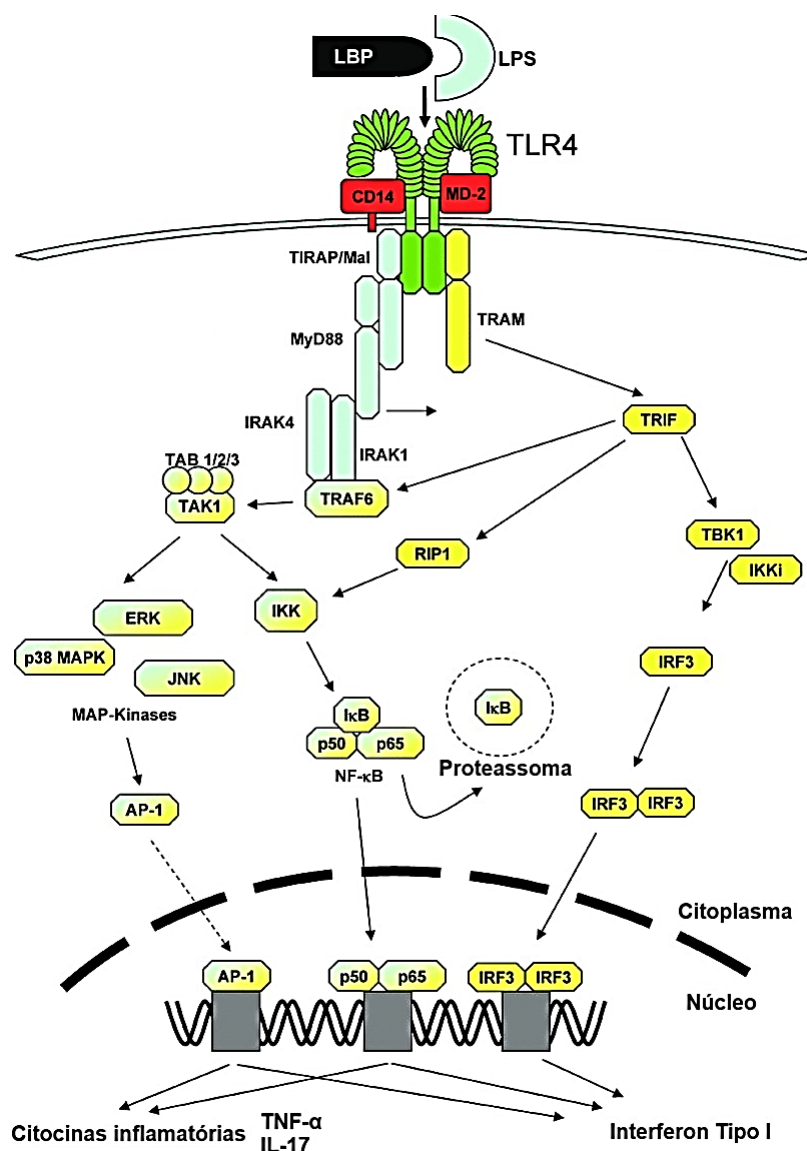
2.2 LIPOPOLISSACARÍDEO E INDUÇÃO DA LPA

Também conhecido como endotoxina, o Lipopolissacarídeo (LPS) é o componente principal da membrana externa das bactérias gram-negativas. Sua liberação da membrana bacteriana ocorre mediante destruição da parede celular, sendo então secretado na forma de vesícula da membrana externa da bactéria (Ryu *et al.*, 2017).

O LPS fornece rigidez à parede celular de bactérias gram-negativas (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, dentre outras) e está relacionado à toxicidade aos animais, provocando sintomas gastrointestinais (gases, diarreia, vômitos), podendo causar quadros mais severos (Madgan, 2016).

A molécula de LPS consiste em 3 partes, o lipídeo A que é responsável pela atividade endotóxica e é ligado covalentemente ao polissacarídeo central, que é uma cadeia de heteropolissacarídeo e a cadeia O-específica, que é variável (DeCs, 2024).

Figura 4. Via de sinalização TLR4/NFκB deflagrada pelo LPS.



Fonte: Adaptado de Gribar *et al.* (2008).

Na circulação sanguínea, o LPS está ligado à proteína de ligação ao LPS (LBP), sendo apresentado e reconhecido inicialmente pelo Cluster de Diferenciação 14 (CD14), uma glicoproteína de superfície presente em células do sistema imunológico, como os macrófagos. Após o reconhecimento inicial, o LPS é então transferido para a Molécula de Diferenciação 2 (MD-2), proteína acessória associada ao Receptor do tipo *tol*l 4 (TLR4). O LPS ligado ao MD-2 é reconhecido pelo TLR4, onde o complexo TLR4/MD-2/LPS desencadeia a ativação do TLR4 promovendo uma mudança conformacional nesse receptor, que irá se dimerizar, e atrair proteínas que contenham

resíduos de tirosina, a exemplo da proteína adaptadora Proteína Adaptadora com Domínio Toll/Interleucina-1 (TIRAP), que atrai o Fator de Diferenciação Mieloide 88 (MyD88) para o complexo, MyD88 vai interagir com a Quinase Associada ao Receptor de Interleucina-1 4 (IRAK4), que vai recrutar IRAK1 e 2 e fosforilar a Quinase Associada ao Receptor de Interleucina-1 1 (IRAK1), uma vez ativada IRAK1, ativa o Fator Associado ao Receptor de TNF 6 (TRAF6), que ativa a Quinase 1 Ativada por TGF- β (TAK1), que formará um complexo com a Proteína de Ligação ao TAK1 1 (TAB1) e Proteína de Ligação ao TAK1 2/3 (TAB2/3). A formação do complexo TAK1 (TAB), TAB1, TAB2 e TAB3 permite a fosforilação das subunidades catalíticas do complexo da Quinase Inibidora de kappa B (IKK), que é formado por uma Quinase Inibidora de kappa B gama (IKKy) e duas subunidades catalíticas: Quinase Inibidora de kappa B alfa (IKK α) e Quinase Inibidora de kappa B beta (IKK β), as subunidades catalíticas fosforiladas, fosforilam o Inibidor de kappa B (IKB) marcando-o para ubiquitinação e subsequente degradação proteossômica, liberando o Fator de Transcrição Nuclear kappa B (NF- κ B), que possui duas subunidades P-50 (regulatória) e P-65 (catalítica). O NF- κ B então migra para o núcleo, onde vai atuar em seus elementos de resposta promovendo a transcrição gênica de diversas citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF- α e IL-17 (Bernardo, 2022; Gribar *et al.*, 2008; Yesudhas *et al.*, 2014).

O modelo experimental de LPA utilizando camundongos e administrando o LPS por instilação nasal é uma ferramenta prática e bastante eficaz. Tais animais, possuem tamanho pequeno, o que requer baixas doses, crescimento rápido e fácil manejo. Por isso, estudos *in vivo* envolvendo camundongos são de grande utilidade, principalmente pela semelhança dos diversos aspectos da doença encontrados em humanos (Silva *et al.*, 2024).

2.3 *Musa paradisiaca* Linnaeus

Figura 5. *Musa paradisiaca* Linnaeus (bananeira), evidenciando o mangará.



Fonte: Autor (2024).

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de banana (Santos, 2023). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2023) sua safra de 2021/2022 em uma área de 457.910 hectares foi de aproximadamente 7 milhões de toneladas.

A bananeira (*Musa paradisiaca* Linnaeus) da família Musaceae, trata-se de uma planta na qual o seu fruto é alimentício e consumido mundialmente, e suas partes são de extremo interesse farmacológico, apresentando grande potencial de servir como alternativa terapêutica para o tratamento de diversas doenças, possuindo uma série de indicações etnofarmacológicas, como atividade antianêmica, antidiarreica,

antidiabética, antimicrobiana, anti-inflamatória, diurética, cicatrizante, antiveneno de cobra, dentre outras (Ahmed *et al.*, 2021).

A inflorescência da bananeira (coração ou mangará) é utilizada como parte alimentícia da planta em alguns países da África, na Índia, Indonésia, Malásia e Srilanka. Embora seu consumo não seja convencional, é considerada uma fonte de fibras e apresenta ainda propriedades antioxidantes, por isso a utilização mais comum das inflorescências é terapêutica, no tratamento de úlceras, menorragia e diarreia. Os indígenas Xokleng utilizam a inflorescência para tratar distúrbios do trato respiratório (Gadelha *et al.*, 2021; Marinho; Pascoal, 2023).

Segundo Shukla e Srivastava (2024), as inflorescências da bananeira à nível mundial geraram uma receita de 162 milhões de dólares, e a meta para 2033 é de 333 milhões de dólares, e isso mostra a importância desta parte da planta, que além de utilizada na culinária e para fins medicinais, é economicamente rentável.

Uma análise a partir da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato hidroalcoólico da inflorescência da bananeira mostrou a presença de diversos polifenóis: ácido gálico, kaempferol, galato de metila, quercetina, miricetina, dentre outros. Além disso, flavonoides a exemplo da rutina foram descritos na constituição fitoquímica (Gadelha *et al.*, 2021).

A escolha do método de extração mais apropriado é difícil e dependente de diversos fatores, como a estabilidade dos flavonoides, a quantidade necessária, a natureza dos solventes, os equipamentos utilizados, dentre outros. Solventes combinados podem propiciar um melhor rendimento de compostos fenólicos em geral, dentre eles os flavonoides, e isso justifica o uso do solvente hidroalcoólico em nosso estudo (Azahar; Gani; Mohd Mokhtar, 2017; Liga; Paul; Péter, 2023).

Os compostos fenólicos e os flavonoides possuem atividade anti-inflamatória e antioxidante, que são benéficas para a saúde humana (Shukla; Srivastava, 2024). Isto denota o alto potencial bioativo da *Musa paradisiaca* Linnaeus, sendo então uma promissora alternativa terapêutica para o tratamento da LPA/SDRA.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Realizar avaliação anatomopatológica pulmonar de camundongos acometidos pela LPA tratados com o extrato hidroalcoólico das inflorescências da *Musa paradisiaca*.

3.2 ESPECÍFICOS

- Analisar macroscopicamente os pulmões dos animais nas diversas condições experimentais;
- Analisar a topografia do exsudato inflamatório presente na árvore pulmonar;
- Analisar as alterações intersticiais presentes na árvore pulmonar;
- Avaliar e quantificar a presença de citocinas inflamatórias agudas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO E ENSAIOS DE TOXICIDADE

O extrato hidroalcoólico das inflorescências (EHM) de *Musa paradisiaca* Linnaeus foi obtido no Laboratório de Fitoquímica do Programa de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/Universidade Federal da Paraíba, por integrantes do Laboratório de Imunofarmacologia. As inflorescências da *Musa paradisiaca* Linnaeus foram coletadas de uma plantação doméstica (coordenadas geográficas 7°08'14.6"S 34°52'26.1"W) localizada no bairro de Jaguaribe, na cidade de João Pessoa – PB. O material fresco pesando 1.315 quilogramas foi seccionado em partes menores o máximo possível com auxílio de lâminas estéreis. Logo após, os fragmentos foram inseridos em macerador do tipo percolador (Amtech India Conical Percolator aço inoxidável 10,000 mL), previamente preparado com papel de filtro e algodão. Como

solvente para a extração, utilizou-se álcool 80% em um volume total de 5 litros. O percolador foi então tampado, rotulado e mantido em temperatura ambiente. Três dias após o início da maceração, houve a retirada da primeira solução alcoólica do macerador, e mais 5 litros de álcool 80% foram adicionados para dar sequência à maceração por mais três dias.

No fim do processo, toda solução extraída foi armazenada em balão volumétrico a temperatura ambiente. Partindo para a etapa de obtenção do extrato, a solução extraída foi rotaevaporada para a eliminação do solvente extrator, e ao final do processo foram obtidos 147 g do extrato bruto, o peso seco do extrato foi obtido a 60 °C por um período de 24 h, e correspondeu a 23,54% por 1 g de extrato bruto. Os ensaios de toxicidade para o extrato hidroalcoólico de *Musa paradisiaca* foram realizados seguindo as diretrizes da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico, e o extrato apresentou LD50 > 5.000 mg/kg sem genotoxicidade ou alteração psicossomática (Gadelha *et al.*, 2021).

4.2 ANIMAIS

A amostra foi composta por 20 camundongos machos da linhagem Swiss, que duas semanas anteriores ao início do experimento foram aclimatados em temperatura média de 23° ± 2°C, em ciclo claro/escuro de 12/12h, com acesso à ração adequada e água potável. Foram distribuídos em 10 caixas de polipropileno com tampa zincada (gaiolas), cada uma contendo 3 animais. Foram definidos 4 grupos experimentais com 5 animais em cada grupo: Controle negativo (basal), LPS, LPA + *Musa paradisiaca*, e LPA + dexametasona (DEXA). Sendo este trabalho aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA nº 7316150420 (ID 001064).

4.3 MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA (LPA)

Os camundongos Swiss machos (n=5) foram previamente anestesiados com Cetamina (75 mg/kg – 0,75 mL) + Xilazina (10 mg/kg – 0,5 mL) + 0,75 mL de água para anestesia via intraperitoneal (IP) (0,2 mL / 100 g), em seguida, receberam 40 µL de uma solução de LPS (LPS de *Escherichia coli* - Sigma-Aldrich®) na dose de 5

mg/kg diluída em salina estéril preparada imediatamente antes do uso e administrada por instilação nasal.

Os animais foram tratados com o extrato hidroalcólico das inflorescências de *Musa paradisiaca* Linnaeus (100mg/kg) por gavagem oral 1, 24 e 48 horas após o desafio com LPS. Os animais tratados com dexametasona, receberam dose única (2mg/kg) 1 hora após o desafio com LPS. Após 72 horas do desafio, os animais foram eutanasiados por overdose anestésica e o órgão de interesse (pulmão) coletado, analisado macroscopicamente para identificação de possíveis alterações e encaminhado para a análise microscópica.

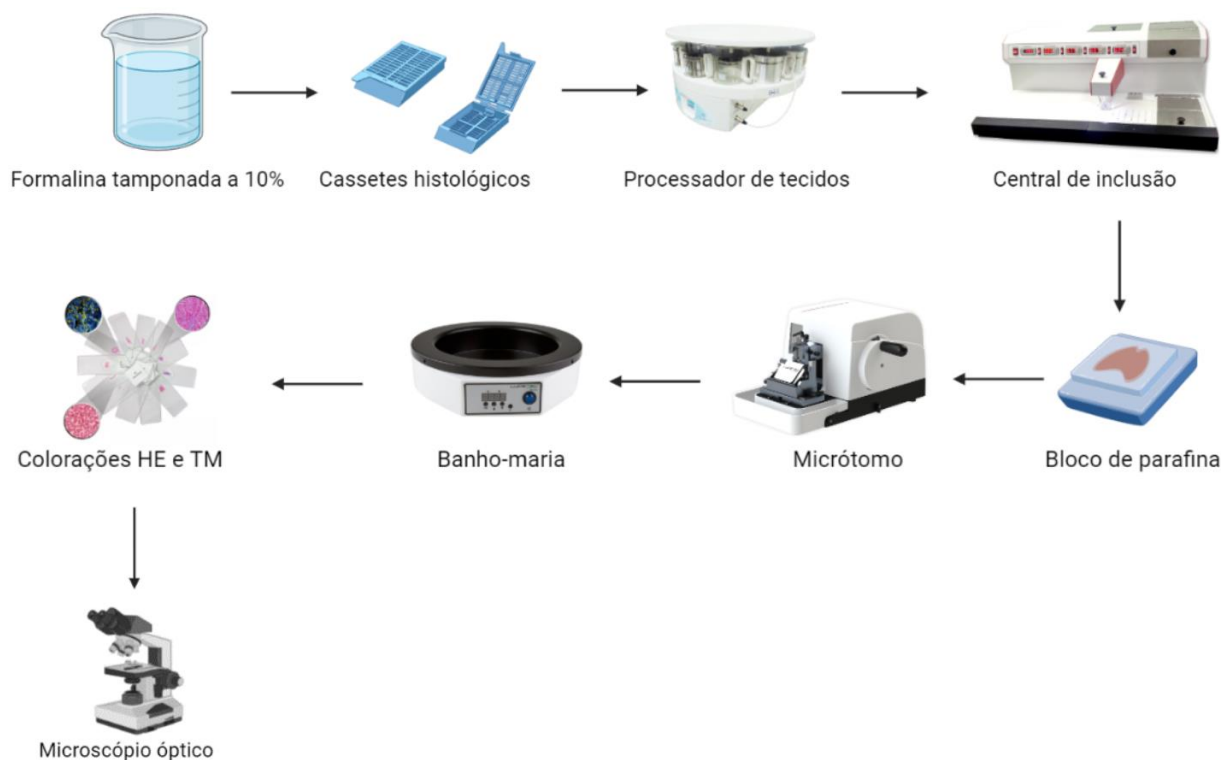
4.4 ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS PULMÕES

Os pulmões foram avaliados macroscopicamente através de alterações presentes no parênquima, como cor, aspecto e distribuição das lesões (Pontes *et al.*, 2024; Lima *et al.*, 2023).

4.5 ANÁLISES HISTOLÓGICAS DA LPA

Os pulmões foram inseridos em cassetes identificados e fixados em formalina tamponada 10% por 72 horas. Logo após, as amostras foram lavadas em água corrente por 1 hora. Em seguida, na etapa de processamento histológico, desidratados em álcool etílico com gradações crescentes 70, 80, 90, 95 e 100%, diafanizados em xilol e impregnados em 2 banhos de parafina líquida, com duração de 1 hora em cada. Posteriormente, houve a etapa da inclusão, onde foi formado o bloco de parafina contendo o fragmento de tecido em seu interior. E então, houve a microtomia, onde os cortes histológicos foram realizados com espessura de 3 a 5µm com o auxílio de um micrótomo semiautomático (EasyPath Diagnósticos - W-Crux EP-31-20094), as fitas foram então distendidas em banho-maria com temperatura em torno de 40°C, e pescadas com o auxílio de uma lâmina de microscópio, onde os cortes ficaram aderidos para serem desparafinizados, reidratados e corados com Hematoxilina e Eosina (HE) e Tricrômico de Masson (TM) (Cavalcanti *et al.*, 2024).

Figura 6: Técnicas histológicas.



Fonte: Autor usando BioRender (2024).

4.6 ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA

Para a análise Imuno-histoquímica, as amostras foram reativadas com solução de citrato de recuperação pH 6,0 (EasyPath Diagnósticos) em câmara pressurizada Pascal (Dako Cytomation, Dinamarca) e a peroxidase endógena foi bloqueada por 30 minutos (EasyPath Diagnósticos). Após essa etapa, foi realizado o bloqueio proteico inespecífico e os cortes foram preenchidos com anticorpo primário anti-NFkB (Cloud-Clone Corp/ PAB82RA01/Polyclonal Antibody; 1:100), anti-TNF α (Boster/ PA1079/Polyclonal Antibody; 1:100) e anti-IL-17 (Boster/ A00421-2/Polyclonal Antibody; 1:100).

Posteriormente, foi adicionado anticorpo secundário biotilado (anticorpo biotilado de cabra anti-coelho e anti-camundongo na diluição de 1:100, Link Sistem - HRP - Dako 4061). A reação foi visualizada utilizando solução de diaminobenzidina

(DAB - HRP) 0,024% (EasyPath Diagnosticos) e contrastada com hematoxilina de Harris (Ferreira *et al.*, 2024).

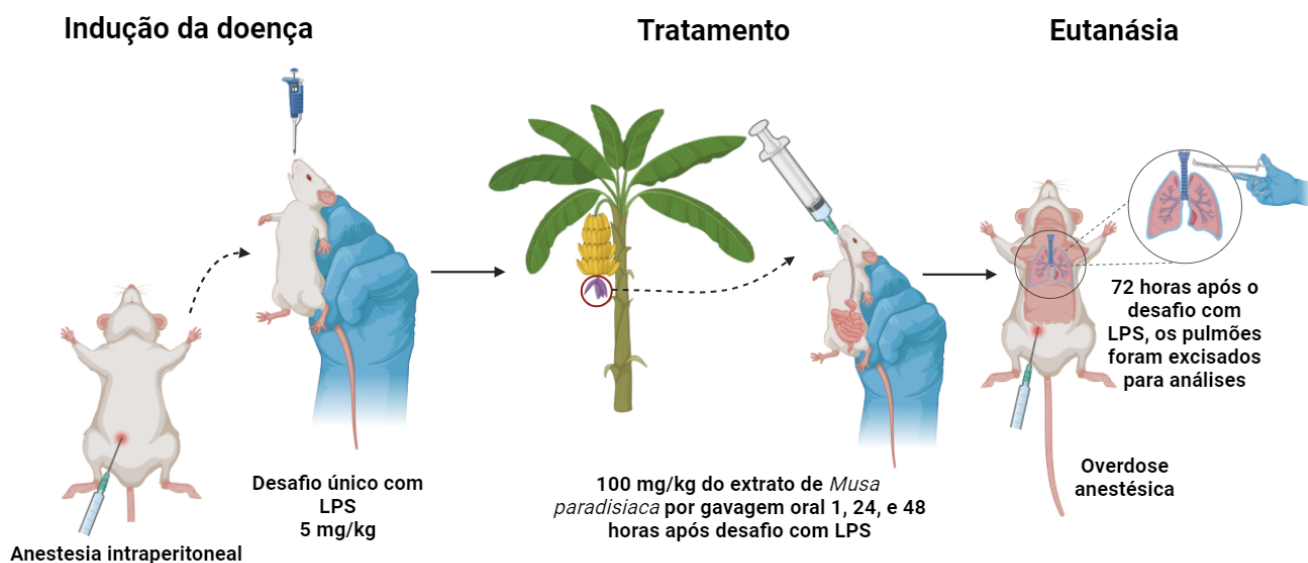
4.7 ANÁLISE MORFOMÉTRICA

Os cortes histológicos corados com Hematoxilina e Eosina (HE), pelo Tricrômico de Masson ou positivos para as reações imuno-histoquímicas, foram visualizados por microscopia de luz na objetiva de 40X, e digitalizadas 20 imagens aleatórias utilizando o mesmo microscópio e microcâmera, analisados em cada tipo de reação. Todo o interstício foi excluído da análise utilizando ferramentas do programa. Todos os tipos de pixels das lesões envolvidas foram selecionados para a criação de uma imagem binária e cálculo da área em μm^2 . Em cada imagem foram selecionados todos os pixels com tons de azuis (Tricrômico de Masson) ou marrons (Imuno-histoquímica) para a criação de uma imagem binária, processamento digital e cálculo da área em μm^2 . A área da matriz extracelular ou as encontradas nas reações imuno-histoquímicas foram calculadas por meio de algoritmos construídos pelo *software Image-Pro Plus* versão 4.5.0.29. (Lima *et.al*, 2023).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente, a distribuição e a normalidade dos dados foram avaliadas pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram tabulados e analisados mediante análise de variância (ANOVA) “one way” e pós-teste de Tukey, com nível de significância estatística de 5% ($p < 0.05$) de modo a estabelecer as diferenças encontradas entre os grupos experimentais. Todos os dados foram analisados utilizando o programa GraphPad Prism® versão 8.0.2.

Figura 7: Esquema metodológico.



Fonte: Autor usando BioRender (2024).

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

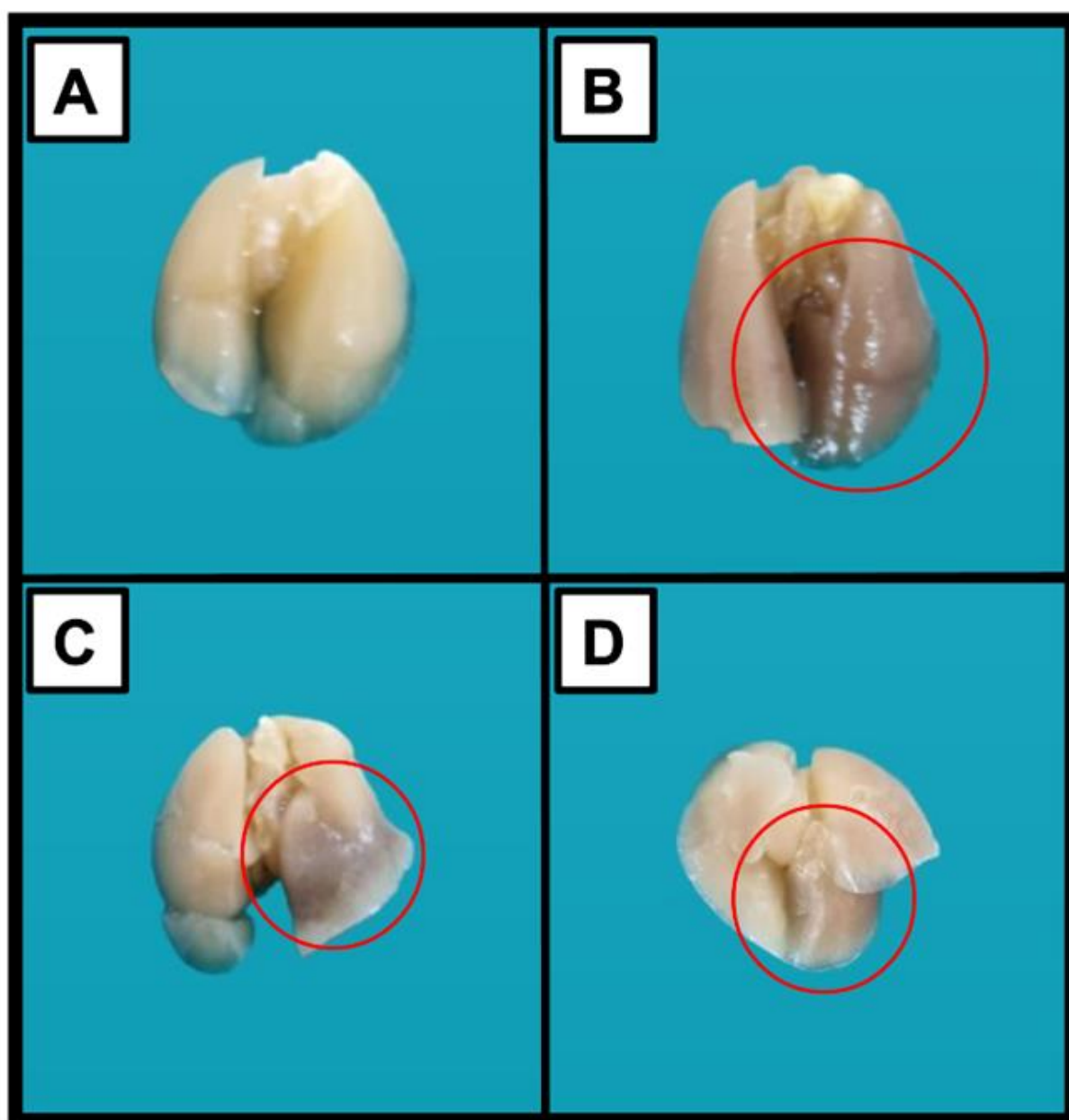
O grupo basal apresentou aspecto macroscópico normal, caracterizado pelo aspecto claro do órgão associado à manutenção da estrutura da pleura com ausência de irregularidades no parênquima e fissuras interlobulares íntegras (Figura 8A). Já o grupo LPA apresentou aspecto edemaciado e regiões enegrecidas difusas, sendo de maior intensidade nos lóbulos direitos, evidenciado pelo círculo vermelho (Figura 8B).

O grupo LPA + *Musa* apresentou uma diminuição acentuada nas lesões enegrecidas encontradas no grupo LPA, havendo a presença de região enegrecida focal na base pulmonar, evidenciado pelo círculo vermelho (Figura 8C), e o mesmo ocorre com o grupo LPA + dexta, evidenciado pelo círculo vermelho (Figura 8D).

A histomorfometria das áreas enegrecidas pulmonares evidenciou que o extrato hidroalcolólico de *Musa paradisiaca* Linnaeus (100mg/kg) por gavagem oral 1, 24 e 48 horas após o desafio com LPS, foi capaz de reduzir a área enegrecida, limitando-a a uma pequena porção da base pulmonar. Houve uma redução média de aproximadamente 43,3% na área/ μm^2 das regiões enegrecidas no LPA + *Musa*

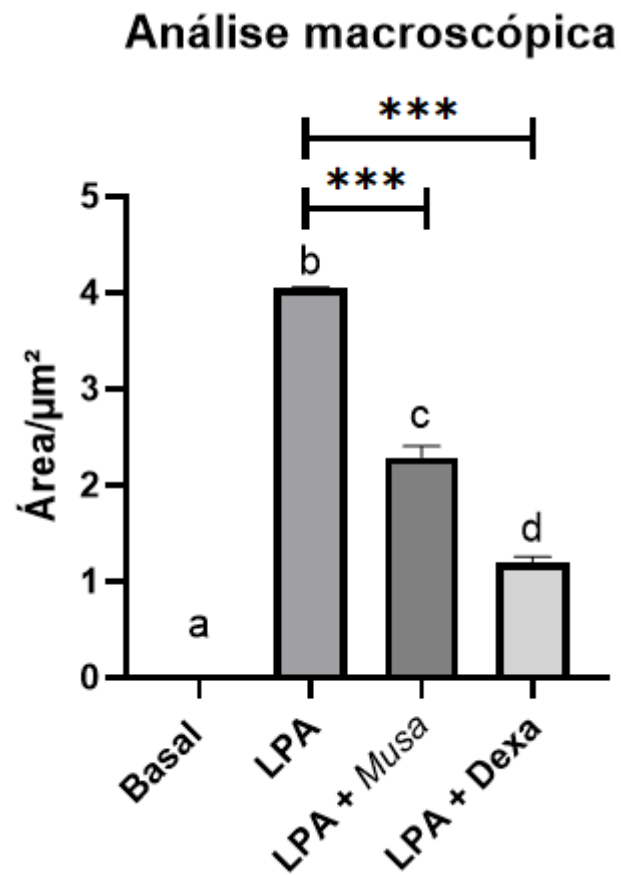
comparado ao grupo LPA. No grupo LPA + Dexta, a redução foi de aproximadamente 70,5% na área/ μm^2 das regiões enegrecidas em comparação com o LPA. Os grupos LPA + *Musa* e LPA + Dexta apresentaram diferença estatística significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo LPA (Gráfico 1).

Figura 8. Macroscopia pulmonar dos grupos experimentais



Macroscopia pulmonar dos grupos experimentais evidenciando que o tratamento com *Musa paradisiaca* Linnaeus promove a diminuição das áreas de lesões macroscópicas pulmonares em camundongos acometidos pela LPA. Legenda: **A:** Basal. **B:** LPA. **C:** LPA + *Musa*. **D:** LPA + Dexta.

Gráfico 1. Histomorfometria das áreas enegrecidas nos lóbulos pulmonares



Os dados são apresentados como média $\pm$ DP e analisados mediante análise de variância (ANOVA) “one way” e pós-teste de Tukey. Diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais ($p < 0.05$). (n = 5 por grupo).

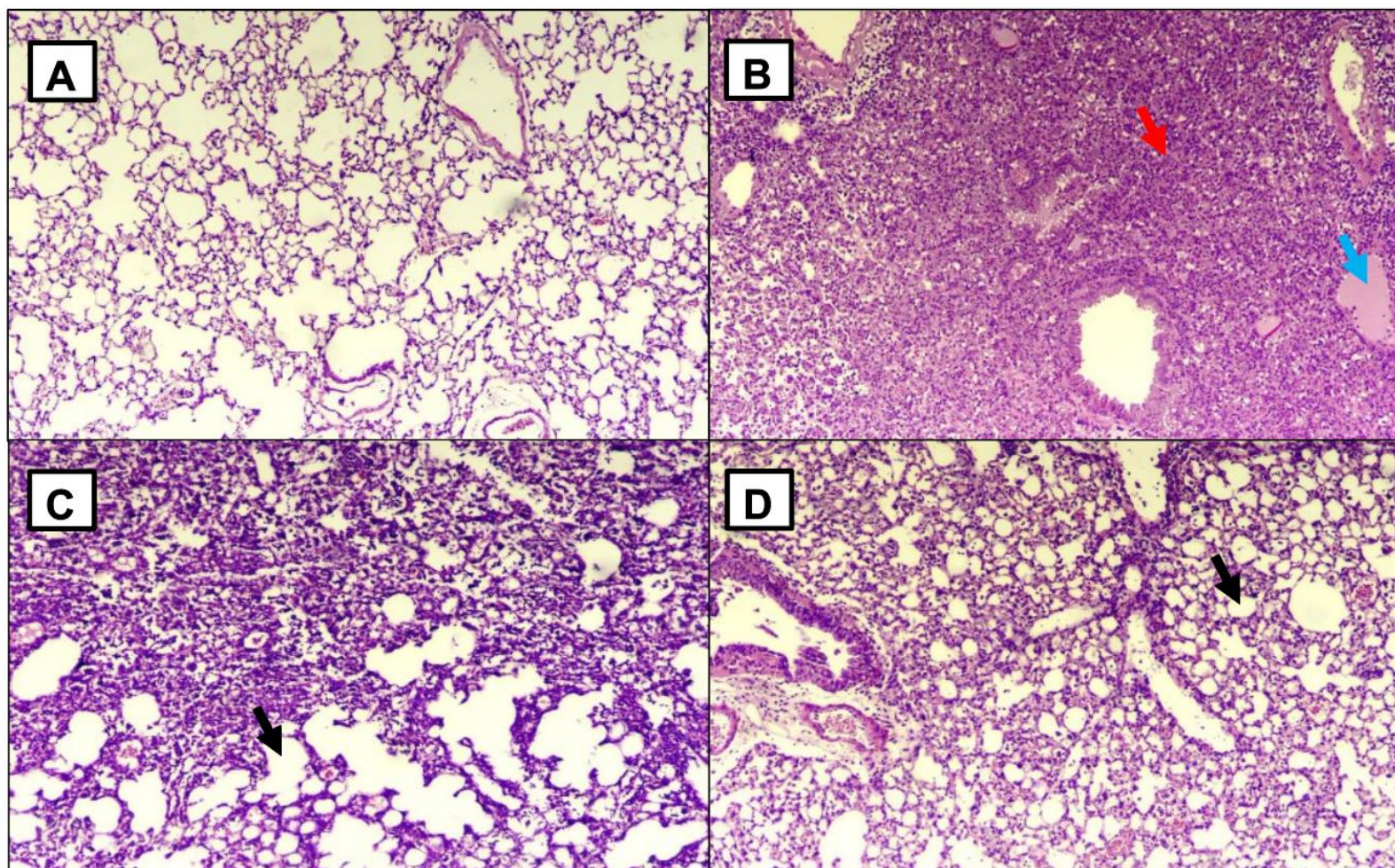
5.2 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

5.2.1 Coloração por Hematoxilina-eosina

A avaliação por microscopia de luz realizada nos cortes histológicos dos pulmões corados com hematoxilina e eosina (HE) em objetiva de 10x (Figura 9) evidenciou que os animais do grupo basal apresentaram a arquitetura pulmonar normal, árvore brônquica e alveolar sem alteração de celularidade ou estroma, evidenciando espaços alveolares livres e abertos (Figura 9A). No grupo LPA, houve a perda da arquitetura do parênquima pulmonar, caracterizado pela exsudação celular (seta vermelha), além de exsudação plasmática difusa (seta azul) (Figura 9B). No grupo LPA + *Musa* houve a reestruturação do parênquima pulmonar, onde observamos espaços alveolares maiores (seta preta) (Figura 9C). No grupo LPA + dexta da mesma forma que o grupo LPA + *Musa*, houve a reestruturação do parênquima pulmonar, porém, com menores espaços alveolares quando comparado ao grupo LPA + *Musa* (seta preta) (Figura 9D).

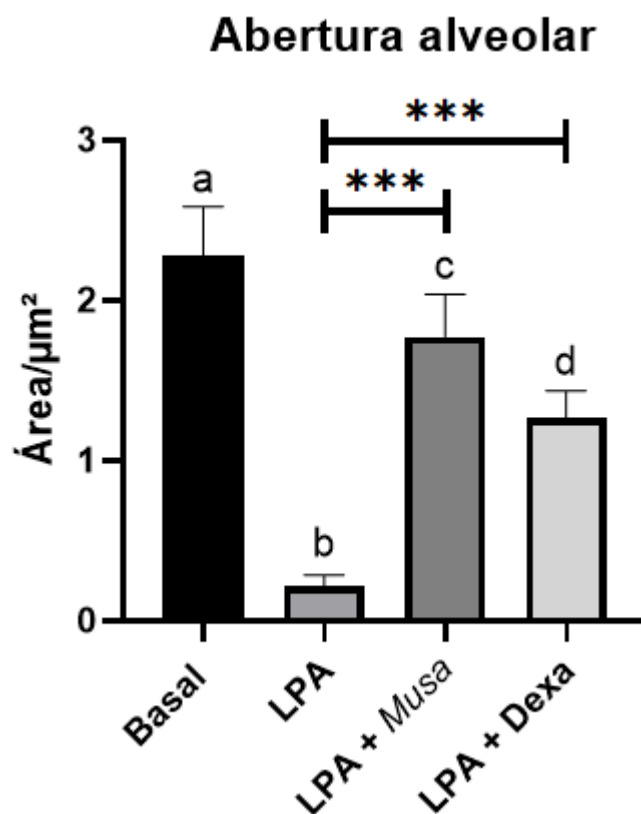
A histomorfometria do parênquima pulmonar evidenciou que o extrato hidroalcólico de *Musa paradisíaca* Linnaeus (100mg/kg) por gavagem oral 1, 24 e 48 horas após o desafio com LPS, foi capaz de aumentar os espaços alveolares porque houve a redução da migração de neutrófilos. Houve um aumento médio de aproximadamente 734,4% na área/ μm^2 dos espaços alveolares no grupo de LPA + *Musa* em comparação com o grupo LPA. O grupo LPA + Dexta apresentou um aumento na área/ μm^2 das aberturas alveolares de aproximadamente 494% em relação ao grupo LPA. Os grupos LPA + *Musa* e LPA + Dexta apresentaram diferença estatística significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo LPA (Gráfico 2).

Figura 9. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais quanto à abertura alveolar



Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais corados com HE (10x) (A-D), evidenciando que o tratamento com *Musa paradisiaca* L. promove o aumento da abertura alveolar em camundongos acometidos pela LPA. Legenda: A: Basal. B: LPA. C: LPA + *Musa*. D: LPA + Dexa.

Gráfico 2. Histomorfometria dos cortes histológicos de pulmão quanto à abertura alveolar



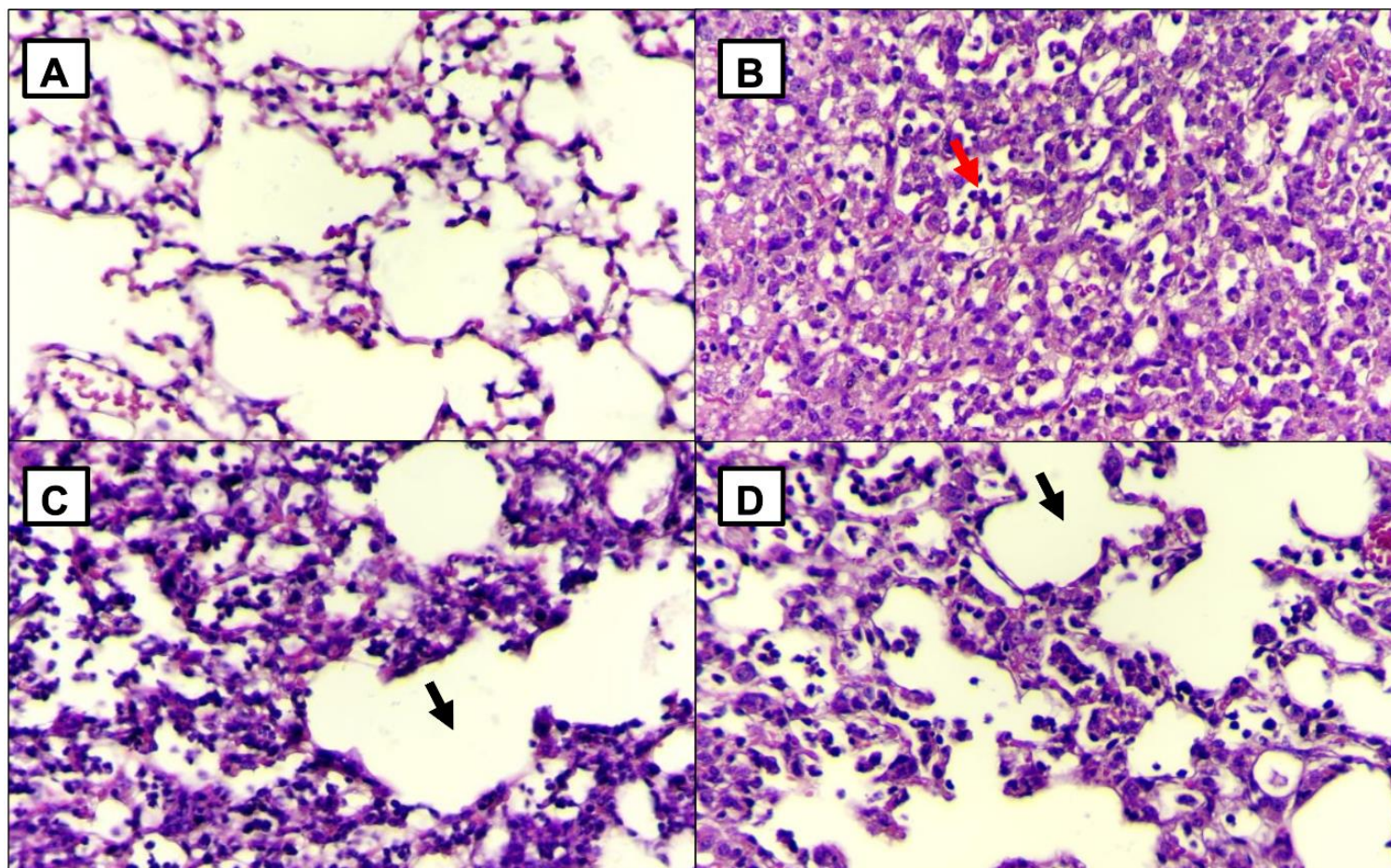
Os dados são apresentados como média±DP e analisados mediante análise de variância (ANOVA) “one way” e pós-teste de Tukey. Diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais ($p < 0.05$). (n = 5 por grupo).

Em detalhes, observa-se que os espaços alveolares estavam fechados devido a migração neutrofílica, onde o neutrófilo é caracterizado pelo núcleo polilobulado e citoplasma pouco corado.

A avaliação por microscopia de luz realizada nos cortes histológicos dos pulmões corados com hematoxilina e eosina (HE) em objetiva de 40x (Figura 10), evidenciou o grupo controle apresentando espaços alveolares livres e abertos (Figura 10A). O grupo LPA apresentou espaços alveolares preenchidos por neutrófilos (seta vermelha) (Figura 10B). O grupo LPA + *Musa* apresentou maior abertura alveolar e menor migração de neutrófilos quando comparado ao grupo LPA (seta preta) (Figura 10C). O grupo LPA + Dexa também apresentou menor congestão alveolar quando comparado ao grupo LPA (seta preta) (Figura 10D).

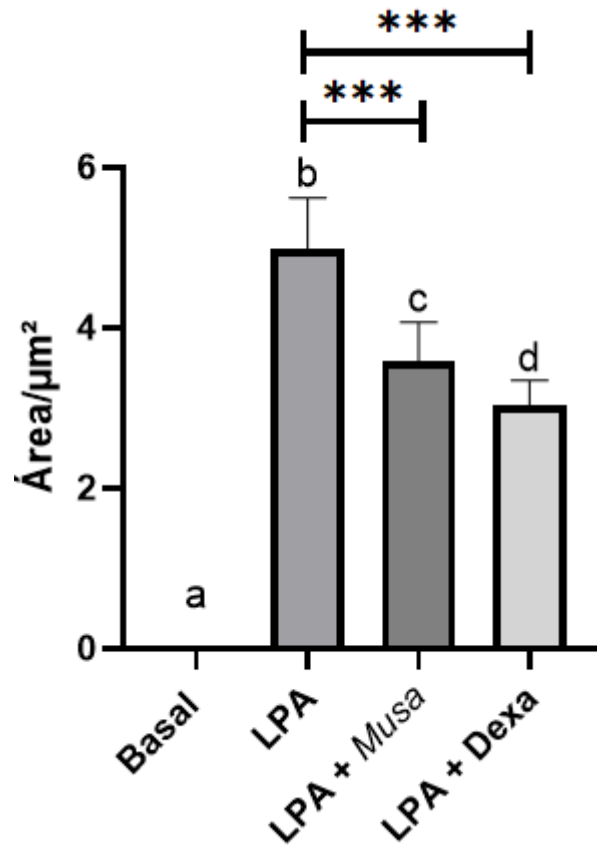
A análise histomorfométrica confirmou a redução no infiltrado de neutrófilos com o tratamento com *Musa paradisiaca* L., evidenciando uma redução média de aproximadamente 27,9% na área/ μm^2 da infiltração neutrofílica no grupo LPA + *Musa* em comparação com o grupo LPA. No grupo LPA + Dexametasona, houve uma redução de aproximadamente 38,9% na área/ μm^2 da infiltração de neutrófilos em comparação com o grupo LPA. Os grupos LPA + *Musa* e LPA + Dexametasona apresentaram diferença estatística significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo LPA (Gráfico 3).

Figura 10. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais quanto ao infiltrado neutrofílico.



Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais corados com HE (40x) (A-D), evidenciando que o tratamento com *Musa paradisiaca* Linnaeus promove a redução da migração neutrofílica em camundongos acometidos pela LPA. Sendo este achado confirmado pela histomorfometria do parênquima pulmonar (Gráfico 3). Legenda: A: Basal. B: LPA. C: LPA + *Musa*. D: LPA + Dexa.

Gráfico 3. Histomorfometria dos cortes histológicos de pulmão quanto à migração neutrofílica



Os dados são apresentados como média $\pm$ DP e analisados mediante análise de variância (ANOVA) “one way” e pós-teste de Tukey. Diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais ($p < 0.05$). (n = 5 por grupo).

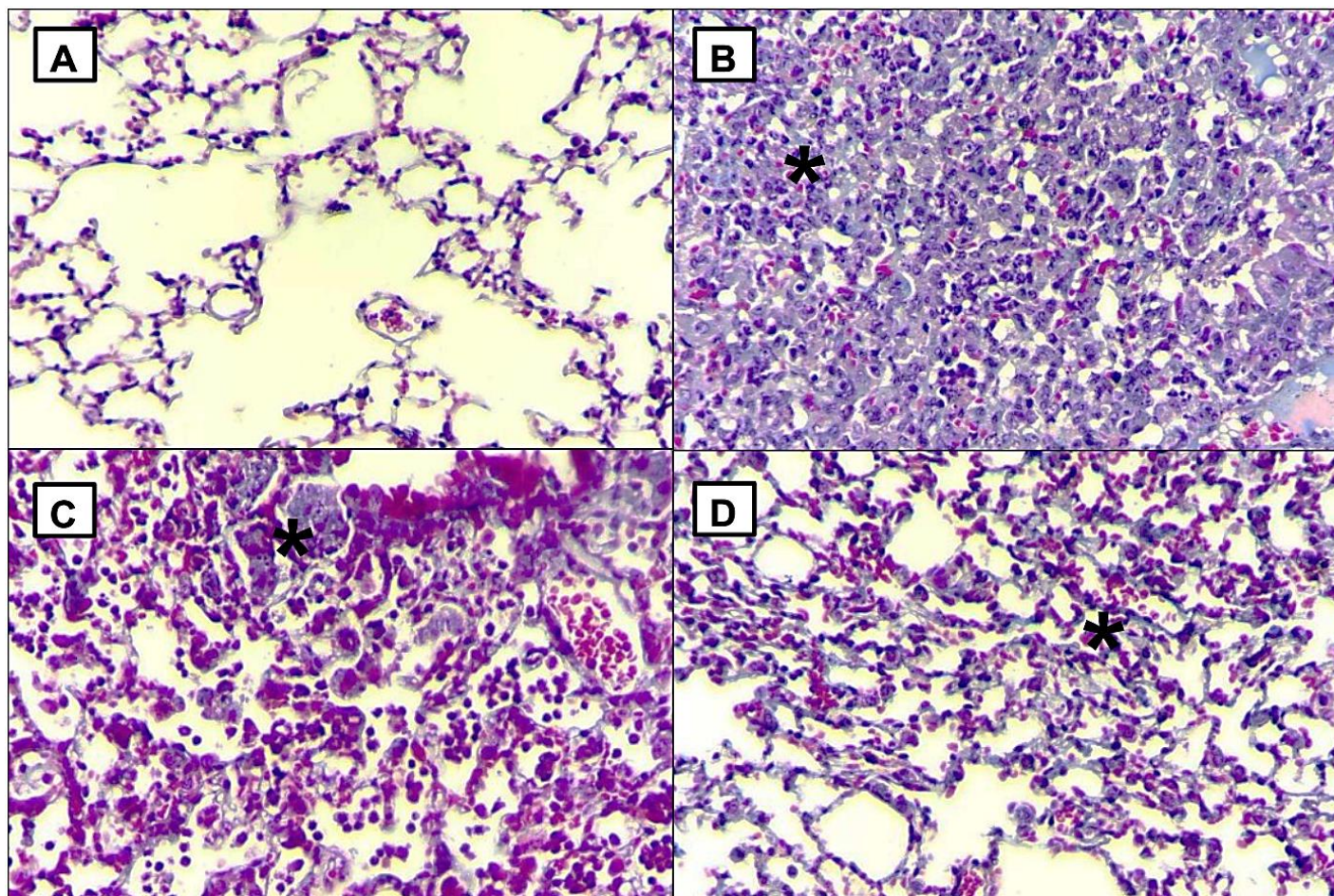
5.2.2 Coloração por Tricrômico de Masson

Para avaliar a deposição de matriz extracelular (MEC), em especial a deposição de fibras colágenas por ser o principal componente da MEC, foi empregada a coloração de Tricrômico de Masson e análise histomorfométrica de todos os grupos experimentais (Figura 11), as fibras são evidenciadas em tons de azul devido ao azul de anilina. Realizamos estas análises para identificarmos a presença de processo cicatricial.

O grupo basal apresentou pouca deposição de matriz extracelular de aspecto homogêneo e distribuição difusa (Figura 11A). O grupo LPA apresentou coloração pelo Tricrômico de Masson aspecto heterogêneo e distribuição difusa (Figura 11B). O grupo LPA + *Musa* apresentou aspecto semelhante ao grupo basal (Figura 11C). O grupo LPA + dexametasona apresentou aspecto semelhante ao grupo LPA (Figura 11D). Os locais de deposição foram evidenciados pelo asterisco (*).

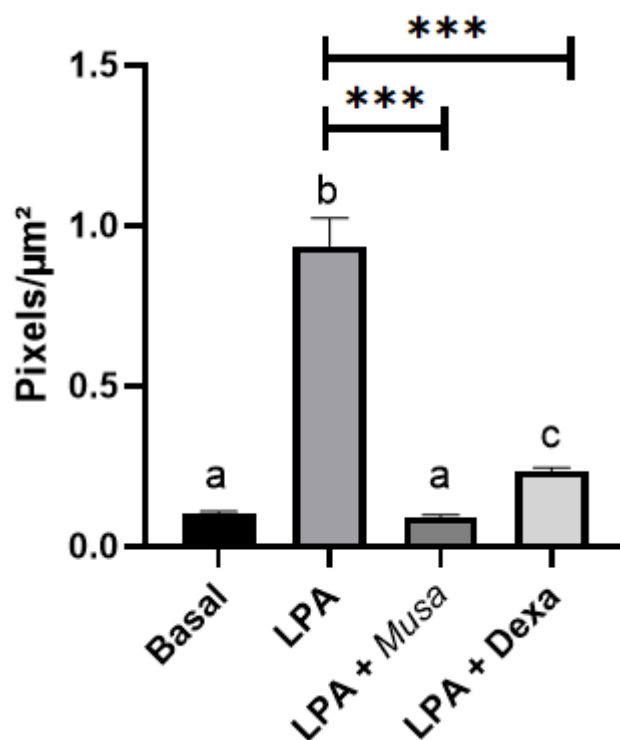
De modo a quantificar esta deposição, foi realizada a histomorfometria do parênquima pulmonar onde identificamos que o extrato de *Musa paradisiaca* Linnaeus reduziu significativamente a deposição, assemelhando-se estatisticamente ao grupo basal. Especificamente, houve uma redução média de aproximadamente 90,2% na densidade de pixels/ μm^2 no LPA + Musa em comparação com o grupo LPA. O grupo LPA + Dexametasona reduziu a densidade de pixels/ μm^2 em aproximadamente 74,9% em comparação com o grupo LPA. Os grupos LPA + *Musa* e LPA + Dexametasona apresentaram diferença estatística significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo LPA (Gráfico 4).

Figura 11. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais quanto à deposição da matriz extracelular



Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais corados com Tricrômico de Masson (40x) (A-D), evidenciando que o tratamento com *Musa paradisiaca* Linnaeus promove a diminuição da deposição de matriz extracelular em camundongos acometidos pela LPA, evitando a fibrose pulmonar. Sendo este achado confirmado pela histomorfometria do parênquima pulmonar (Gráfico 4). Legenda: A: Basal. B: LPA. C: LPA + *Musa*. D: LPA + Dexa.

Gráfico 4. Histomorfometria dos cortes histológicos de pulmão quanto à deposição de matriz extracelular



Os dados são apresentados como média±DP e analisados mediante análise de variância (ANOVA) “one way” e pós-teste de Tukey. Diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais ($p < 0.05$). (n = 5 por grupo).

5.3 AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA

5.3.1 Avaliação Imuno-histoquímica para NF-kB

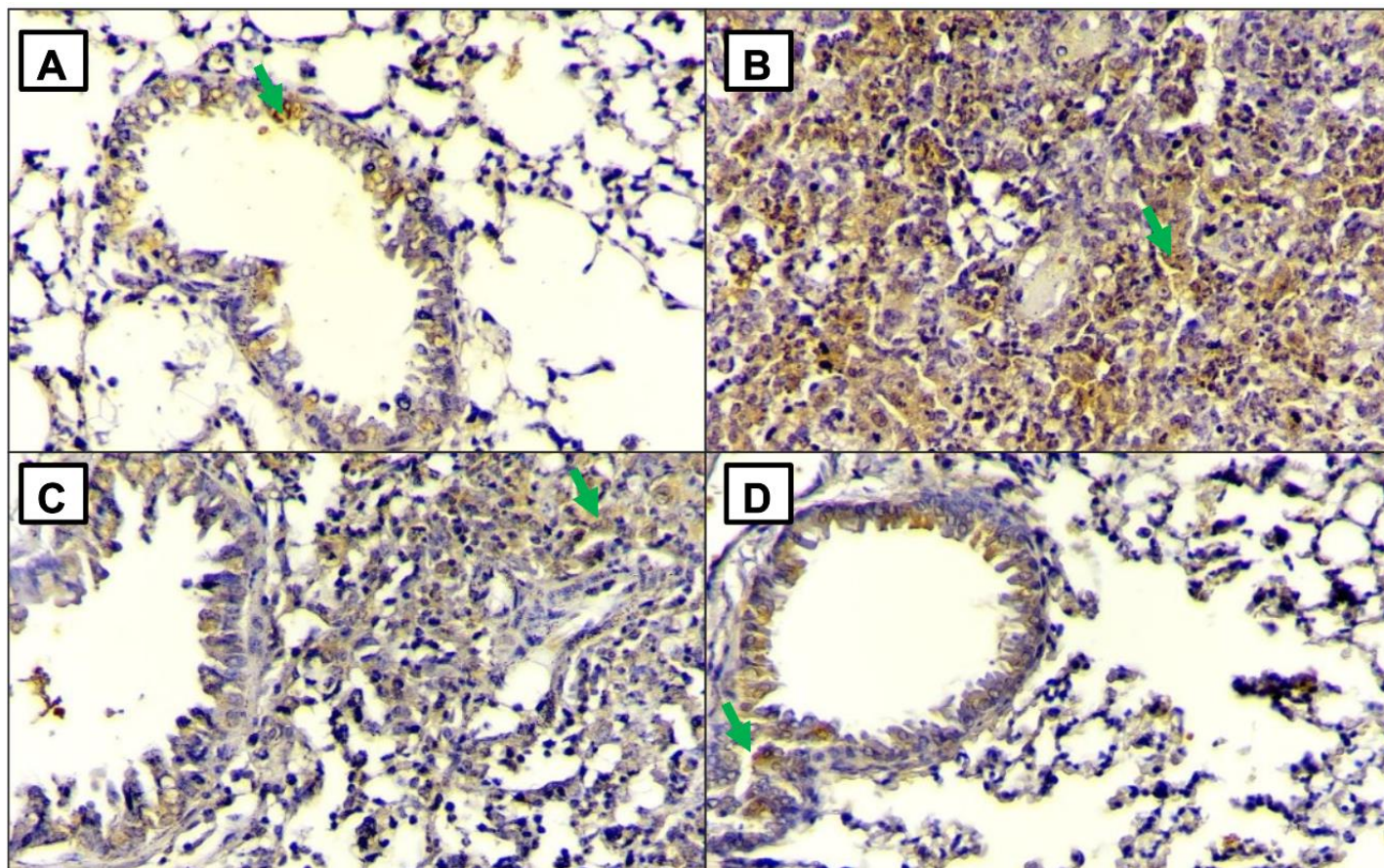
De modo a identificar a ativação de uma das principais proteínas produtoras de citocinas nos processos inflamatórios agudos, realizamos a imuno-histoquímica para avaliação do NF-kB.

Os resultados mostraram que todos os grupos experimentais apresentaram marcação marrom-acastanhada confirmando a positividade da reação imuno-histoquímica contra o NF-kB, conforme evidenciado pelas setas verdes (Figura 12).

O grupo basal apresentou marcação de maneira difusa, mas bastante discreta nas regiões de árvore alveolar, como bronquíolos (Figura 12A). O grupo LPA apresentou marcação difusa no parênquima pulmonar e bastante acentuada principalmente no infiltrado inflamatório neutrofílico (Figura 12B). O grupo LPA + *Musa* apresentou marcação difusa no parênquima e infiltrado inflamatório, porém menos intensa visivelmente em comparação com o grupo LPA (Figura 12C). O grupo LPA + dexametasona apresentou marcação difusa e discreta no parênquima pulmonar e infiltrado inflamatório (Figura 12D).

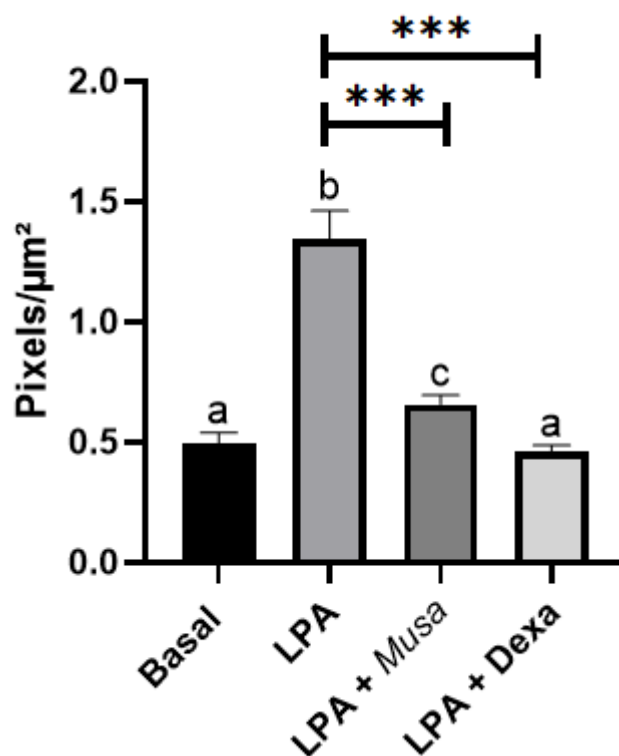
De modo a quantificar esta marcação, foi realizada a histomorfometria do parênquima pulmonar onde identificamos que o extrato de *Musa paradisiaca* Linnaeus reduziu a densidade de pixels/ μm^2 em aproximadamente 51,1% em comparação com o grupo LPA. O tratamento com dexametasona reduziu a densidade de pixels/ μm^2 em aproximadamente 65,6% em comparação com o grupo LPA. Os grupos LPA + *Musa* e LPA + Dexametasona apresentaram diferença estatística significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo LPA (Gráfico 5).

Figura 12. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação imuno-histoquímica contra NF-kB.



Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação imuno-histoquímica contra NF-kB contra coradas em Hematoxilina (40x) (A-D), evidenciando que o tratamento com *Musa paradisiaca* Linnaeus promove a diminuição da expressão de NF-kB em camundongos acometidos pela LPA, reduzindo a expressão de genes que codificam citocinas pró-inflamatórias. Sendo este achado confirmado pela histomorfometria do parênquima pulmonar (Gráfico 5). Legenda: A: Basal. B: LPA. C: LPA + *Musa*. D: LPA + Dexa.

Gráfico 5. Histomorfometria de cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação imuno-histoquímica contra NF-kB.



Os dados são apresentados como média±DP e analisados mediante análise de variância (ANOVA) “one way” e pós-teste de Tukey. Diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais ($p < 0.05$). (n = 5 por grupo).

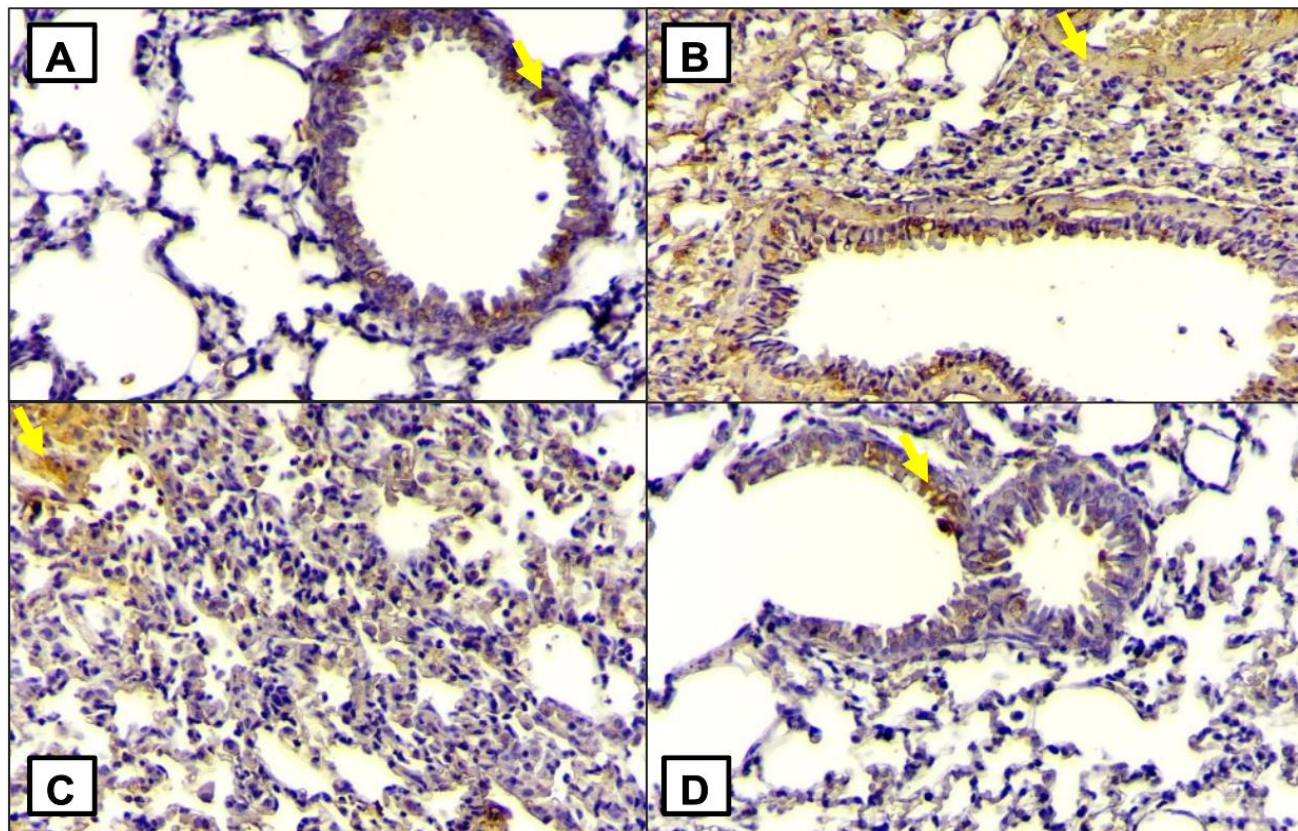
5.3.2 Avaliação Imuno-histoquímica para TNF- α

De modo a identificar se os produtos da ativação do NF-kB também foram reduzidos, realizamos a análise imuno-histoquímica contra o TNF- α . Todos os grupos experimentais apresentaram marcação marrom-acastanhada confirmando a positividade da reação imuno-histoquímica contra o TNF- α , conforme evidenciado pelas setas amarelas (Figura 13).

O grupo basal apresentou marcação difusa, mas extremamente discreta nos bronquíolos (Figura 13A). O grupo LPA apresentou marcação difusa e intensa nas regiões alveolares (Fig. 13 B). O grupo LPA + *Musa* apresentou marcação difusa de baixa intensidade, com regiões focais de maior intensidade em áreas de infiltrado inflamatório e menos intensas quando comparadas ao grupo LPA (Figura 13C). O grupo LPA + dexametasona apresentou marcação difusa, mas discreta nas regiões alveolares (Figura 13D).

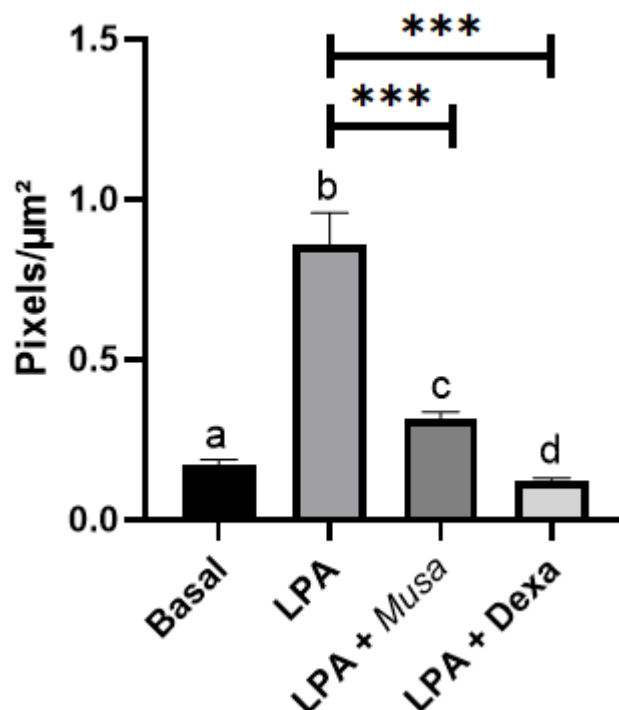
De modo a quantificar esta marcação, foi realizada a histomorfometria do parênquima pulmonar onde identificamos que o extrato de *Musa* reduziu a densidade de pixels/ μm^2 em aproximadamente 63,4% em comparação com o grupo LPA. O tratamento com dexametasona reduziu a densidade de pixels/ μm^2 em aproximadamente 85,9% em comparação com o grupo LPA. Os grupos LPA + *Musa* e LPA + Dexa apresentaram diferença estatística significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo LPA (Gráfico 6).

Figura 13. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação Imuno-histoquímica contra TNF- α



Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação imuno-histoquímica contra TNF- α contra coradas em Hematoxilina (40x) (A-D), evidenciando que o tratamento com *Musa paradisiaca* Linnaeus promove a diminuição da expressão de TNF- α em camundongos acometidos pela LPA, reduzindo um dos principais mediadores da resposta inflamatória nesta doença e evidenciando que sua expressão é oriunda da via clássica de ativação do NF- κ B. Sendo este achado confirmado pela histomorfometria do parênquima pulmonar (Gráfico 6). Legenda: A: Basal. B: LPA. C: LPA + *Musa*. D: LPA + Dexa.

Gráfico 6. Histomorfometria de cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação Imuno-histoquímica contra TNF- α .



Os dados são apresentados como média $\pm$ DP e analisados mediante análise de variância (ANOVA) “one way” e pós-teste de Tukey. Diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais ($p < 0.05$). ($n = 5$ por grupo).

5.3.3 Avaliação Imuno-histoquímica para IL-17

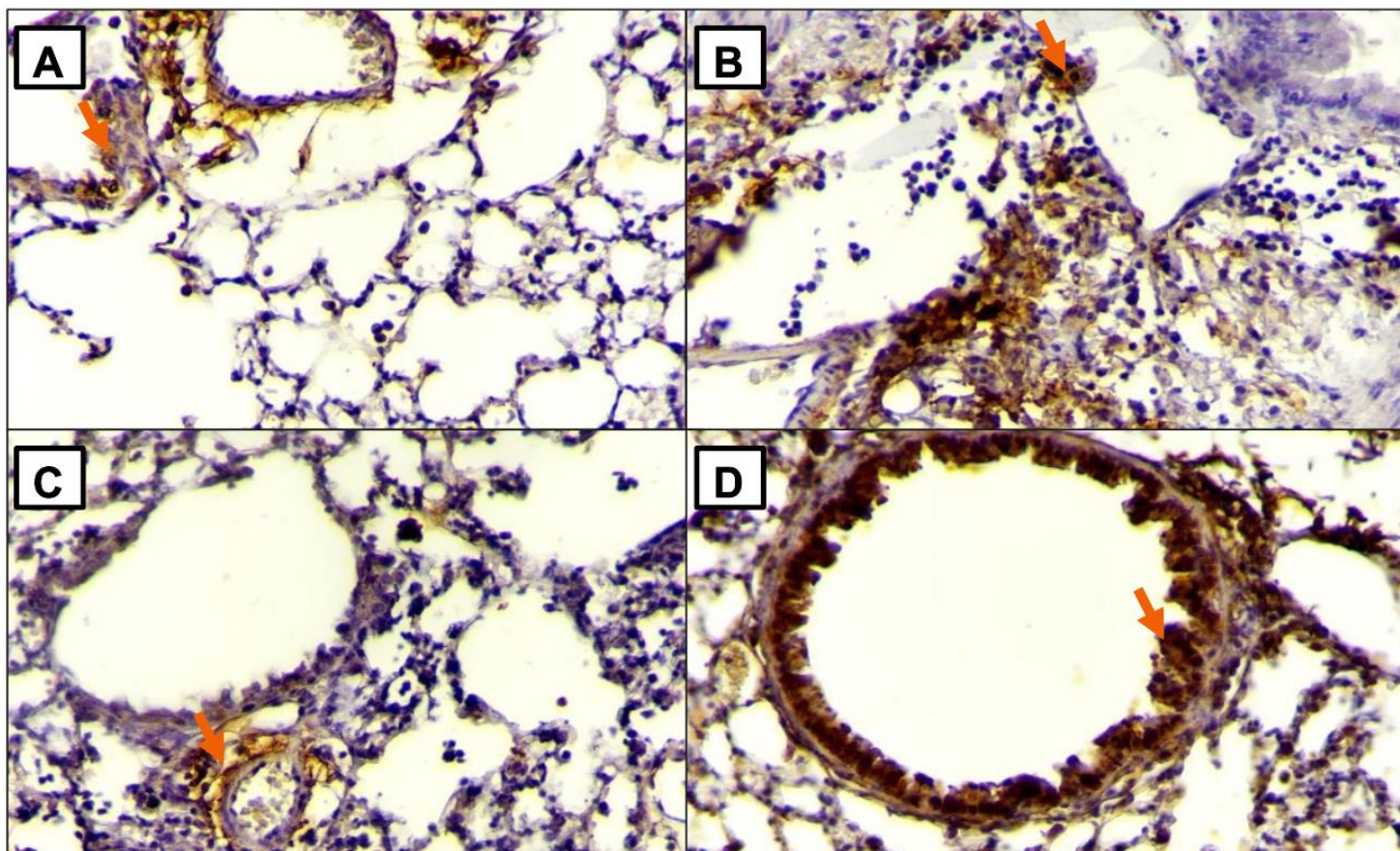
Tendo em vista que o estabelecimento da LPA se dá pela presença dos neutrófilos oriundos da resposta inflamatória, avaliamos então a presença da citocina quimioatraente de neutrófilos, a IL-17. Todos os grupos experimentais apresentaram marcação marrom-acastanhada confirmando a positividade da reação imuno-histoquímica contra a IL-17, conforme evidenciado pelas setas laranjas (Figura 14).

O grupo basal apresentou marcação difusa nas regiões broquiolares (Figura 14A). O grupo LPA apresentou marcação difusa e intensa nas regiões alveolares (Figura 14B). O grupo LPA + *Musa* apresentou marcação difusa de baixa intensidade

no parênquima pulmonar, com regiões focais de maior intensidade em áreas de infiltrado inflamatório, e de menor intensidade quando comparadas ao grupo LPA (Figura 14C). O grupo LPA + dexta apresentou marcação difusa, com regiões focais de maior intensidade no parênquima pulmonar (Figura 14D).

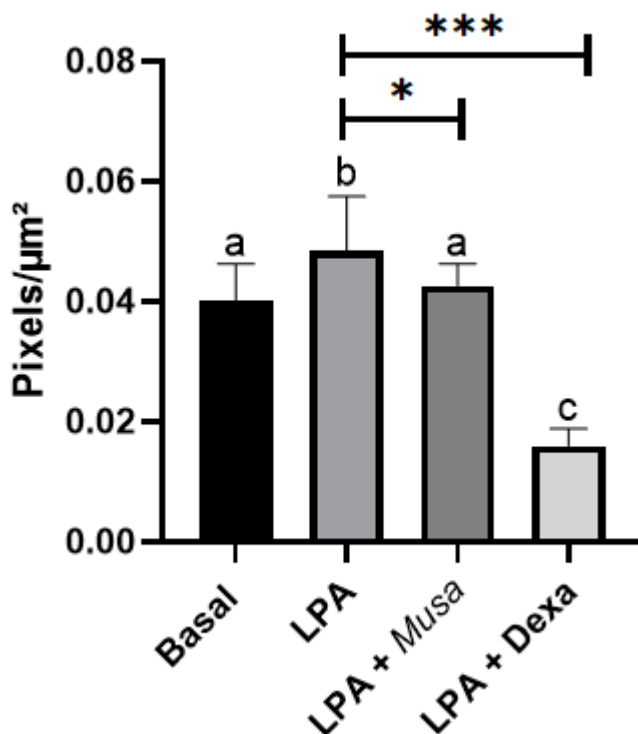
De modo a quantificar esta marcação, foi realizada a histomorfometria do parênquima pulmonar onde identificamos que o extrato de *Musa* reduziu a densidade de pixels/ μm^2 em aproximadamente 12,1% em comparação com o grupo LPA. O tratamento com dexametasona reduziu a densidade de pixels/ μm^2 em aproximadamente 67,0% em comparação com o grupo LPA. Os grupos LPA + *Musa* e LPA + Dexta apresentaram diferença estatística significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo LPA (Gráfico 7).

Figura 14. Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação Imuno-histoquímica contra IL-17.



Cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação imuno-histoquímica contra IL-17 contra coradas em Hematoxilina (40x) (A-D), evidenciando que o tratamento com *Musa paradisiaca* L. promove a diminuição da migração de neutrófilos por reduzir os níveis de IL-17 no parênquima pulmonar. Sendo este achado confirmado pela histomorfometria do parênquima pulmonar (Gráfico 7). Legenda: A: Basal. B: LPA. C: LPA + *Musa*. D: LPA + Dexa.

Gráfico 7. Histomorfometria dos cortes histológicos de pulmões dos grupos experimentais em reação Imuno-histoquímica contra IL-17.



Os dados são apresentados como média±DP e analisados mediante análise de variância (ANOVA) “one way” e pós-teste de Tukey. Diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais ($p < 0.05$). (n = 5 por grupo).

6 DISCUSSÃO

Este estudo revelou que o tratamento com o extrato hidroalcólico de *Musa paradisiaca* Linnaeus atenuou a lesão pulmonar aguda induzida por LPS em camundongos, e que tal resultado pode ser atribuído à regulação negativa do processo inflamatório mediado por LPS / NF-kB, em especial da IL-17, responsável pelo recrutamento de neutrófilos, elemento celular chave na patogênese da LPA.

Mediante ativação dos macrófagos alveolares, citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas são liberadas, havendo então o recrutamento de neutrófilos, iniciando o processo de marginação leucocitária, ocupando a periferia do vaso, seguido dos processos de captura e rolamento aderidos frouxamente ao endotélio, e quando

ativados, aderem firmemente e pelo processo de diapedese migram para o local de infecção passando entre as células endoteliais para exercer sua função na resposta inflamatória (Bernardo *et al.*, 2022; Franco; Reis; Nascimento, 2021).

Entretanto, na LPA induzida por LPS, esta resposta ocorre de maneira exacerbada, o estresse oxidativo e a inflamação perturbam a integridade da barreira alvéolo-capilar aumentando a permeabilidade vascular, havendo então um intenso influxo neutrofílico e formação de edema exsudato (Dhlamini *et al.*, 2022).

Em um outro estudo, Liao *et al.* (2024) visaram explorar os efeitos terapêuticos de um extrato de bananeira (extraída das folhas, cascas e caules de *Musa paradisiaca* Linnaeus) na inflamação pulmonar aguda induzida pela instilação intranasal de poli mimético viral de ácido ribonucleico (RNA) em camundongos, e identificaram a inibição do infiltrado inflamatório, bem como da lesão, corroborando com os resultados do nosso estudo, pois evidenciamos uma diminuição no infiltrado neutrofílico e o aumento dos espaços alveolares.

Em outros modelos de doenças inflamatórias a *Musa paradisiaca* Linnaeus também apresentou efeitos terapêuticos promissores. O extrato metanólico de *Musa* nas doses de 200 e 400 mg/kg via oral, reduziram significativamente a inflamação de forma dose dependente em modelos de edema de pata induzido por dextrano e por carragenina, e edema auricular induzido por xilol (Biswas *et al.*, 2012).

Um interessante relato de caso realizado por Culik (2014), evidenciou que o xarope feito utilizando o coração da bananeira, é popular e utilizado em várias regiões brasileiras, onde os usuários utilizam como antitussígeno, e em casos de bronquite, aliviando rapidamente os sintomas. Além disso, a utilização do xarope por determinado período, faz com que sejam impedidas novas crises de bronquite.

Nos pulmões, a MEC é secretada pelos fibroblastos e seus principais componentes são as fibras colágenas e elásticas, glicoproteínas, proteoglicanos e metaloproteinases (MMPs), a qual relaciona-se com a resolução da resposta inflamatória aguda, culminando em cicatrização (Ito *et al.*, 2019).

O colágeno é o componente majoritário, e sua quantidade é determinante para as propriedades mecânicas pulmonares. Os subtipos I e III constituem principalmente a estrutura das paredes alveolares, e o subtipo IV constitui as membranas basais (Ito *et al.*, 2019; Suki; Bates, 2008).

Nos estágios iniciais, ocorre uma deposição mais acentuada de fibras

colágenas subtipo III, caso não haja resolução nesta fase, pode evoluir para a remodelação fibrótica, onde ocorre a troca do subtipo III para o I, que é mais rígido, propiciando transtornos no processo de trocas gasosas e afetando a complacência pulmonar (Ito *et al.*, 2019).

Pacientes sobreviventes da LPA/SDRA tendem a apresentar fibrose pulmonar crônica, redução na função pulmonar e comprometimento da qualidade de vida, devido ao prejuízo à saúde. Além disso, a fibrose é responsável por altas taxas de morbimortalidade, estando associada a cerca de 30% das mortes hospitalares. A fibrose pulmonar é um problema avassalador, que se caracteriza pela inflamação intersticial difusa e acúmulo excessivo de fibras colágenas, levando ao remodelamento do parênquima do órgão, por este motivo, deve ser bem compreendida e sua progressão coibida (Zhang; Fan; Mo, 2018).

Curiosamente, Cheng *et al.* (2024) revelaram que recentemente foi descoberto o Super Verde (SG), uma substância hidrossolúvel extraída das folhas, cascas e caules da *Musa paradisiaca* Linnaeus, e que parece apresentar efeito antimicrobiano. Eles avaliaram a substância na cicatrização de feridas cirúrgicas de ratos diabéticos, e identificaram que houve um efeito benéfico na cicatrização de feridas cutâneas, e ainda estimou a neovascularização, diminuiu a inflamação por reduzir citocinas como o TNF- α , e aumentou a formação de tecido de granulação. A análise histológica utilizando a coloração de Tricrômico de Masson evidenciou uma significativa deposição de colágeno, além de aumentar a expressão gênica dos colágenos tipo I e III. Estes resultados chamam a atenção, e nos mostram que a depender do modelo de doença, a *Musa paradisiaca* Linnaeus é capaz de aumentar ou diminuir a deposição de colágeno, onde no nosso estudo a menor deposição foi encontrada e benéfica, enquanto no estudo supracitado, o aumento promoveu a cicatrização cutânea.

Por este motivo, investigamos se o extrato hidroalcoólico das inflorescências de *Musa paradisiaca* Linnaeus mitigaria a produção de TNF- α e IL-17 pela regulação negativa da ativação do NF- κ B. A avaliação imuno-histoquímica evidenciou redução significativa da expressão tecidual do NF- κ B, assim como no estudo realizado por Liao *et al.* (2024), bem como do TNF- α e IL-17 em relação ao grupo LPA, indicando a via de sinalização pelo qual atua.

Um estudo visando avaliar o potencial anti-inflamatório e antioxidativo da

quercetina em células epiteliais pulmonares, evidenciou que a quercetina reduziu a translocação da fração p65 do NF- κ B para o núcleo, e consequente diminuição de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α (Sul; Ra, 2021). A quercetina se trata de um flavonoide, extratos de *Musa paradisiaca* Linnaeus apresentam flavonoides em sua composição, corroborando com os efeitos também observados no nosso estudo (Gadelha *et al.*, 2021).

O Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α), inicialmente chamado de caquexina devido ao seu forte efeito citotóxico em células tumorais, foi descrito pela primeira vez em 1975. Trata-se de um polipeptídeo trimérico, produzido majoritariamente por monócitos e macrófagos ativados, mas outras células o produzem, como os neutrófilos, fibroblastos e linfócitos. Esta citocina pode atuar em quase todos os elementos celulares nucleados por meio dos dois receptores de membrana, o receptor TNF tipo I (p55) e receptor de TNF tipo II (p75), ou como molécula solúvel (Batista Júnior *et al.*, 2009).

O TNF- α possui um importante papel nos eventos inflamatórios e é amplamente pesquisado em diversos estudos, pois tende a apresentar níveis aumentados na LPA/SDRA. Neste contexto, pode causar hipertermia, promoção da expressão do fator tecidual nas células endoteliais (potente pró-coagulante), danos às células endoteliais vasculares, aumento da permeabilidade vascular, além de atuar na retroalimentação positiva do processo inflamatório pela ativação do NF- κ B (Lin *et al.*, 2018; Voyce, 2015; Wang *et al.*, 2014). Além disso, estudos mostraram que o recrutamento de neutrófilos é extremamente reduzido em camundongos com *knockout* do receptor de TNF- α (Correger *et al.*, 2020).

No estudo realizado por Kurnijasanti e Candrarisna (2019) foi avaliado o potencial do extrato etanólico do caule de *Musa paradisiaca* Linnaeus na redução TNF- α e outros mediadores inflamatórios no modelo de enterite em ratos. O extrato apresentou atividade anti-inflamatória pela redução dos mediadores inflamatórios.

Um outro estudo avaliou a atividade anti-inflamatória do extrato etanólico do caule da *Musa acuminata* Stem, que contém polifenóis, em um modelo de ferida da mucosa oral. Como resultados obtiveram a redução da positividade do NF- κ B e TNF- α pela imuno-histoquímica no grupo tratado com o extrato 50% em comparação com o grupo controle (que foi lesionado e não foi tratado) (Apriasari *et al.*, 2020).

A IL-17 é produzida pelas células T *helper* 17 (Th17), uma subpopulação de

células T CD4⁺ é descrita como uma citocina que desempenha uma importante função na defesa do hospedeiro contra microrganismos, a exemplo do estafilococo (Ding *et al.*, 2017). No entanto, no contexto da LPA, a IL-17 exerce protagonismo, porque está essencialmente ligada à quimiotaxia, maturação e proliferação de neutrófilos. Embora não ative acentuadamente o NF-κB, atua em sinergismo com o TNF-α e outras citocinas garantindo a manutenção da inflamação, ativando o NF-κB (Liu *et al.*, 2022).

Além disso, a via de sinalização da IL-17 causa disfunção mitocondrial e ocasiona a apoptose de pneumócitos tipo II (Pei *et al.*, 2024). E por este motivo, é um importante alvo terapêutico neste modelo de doença.

Ding *et al.* (2017) objetivaram investigar os efeitos do bloqueio da IL-17 em um modelo LPA em camundongos, e as análises histológicas revelaram redução nas alterações encontradas após administração de anticorpos bloqueadores da IL-17, devido a diminuição da hemorragia, do edema pulmonar e da infiltração de leucócitos nos alvéolos no grupo LPA em comparação com o grupo controle.

A superexpressão de IL-17 ou a administração de IL-17 pelas vias respiratórias induzem inflamação e graves danos pulmonares, porém animais *knockout* que carecem de elementos da sinalização da IL-17 não sofrem tais danos (Zhang *et al.*, 2018).

Um estudo realizado pelo ensaio imunoenzimático (ELISA), mostrou que houve uma diminuição considerável de IL-17 no lavado brônquio-alveolar de camundongos tratados com extrato de *Musa paradisiaca* em um modelo de inflamação pulmonar aguda (Liao *et al.*, 2024). Tal resultado corrobora com os achados do nosso estudo, denotando mais uma vez o potencial terapêutico da *Musa paradisiaca* Linnaeus em atenuar a LPA, inibindo a via de sinalização da citocina IL-17.

Estudos recentes destacam a atividade biológica da *Musa paradisiaca* em diversos modelos de doenças inflamatórias, como a lesão pulmonar aguda, que é o foco do nosso estudo. Prevenir a progressão do processo inflamatório para a fase de reparo foi crucial em nosso modelo de doença, uma vez que o processo fibrótico estabelecido reduz a complacência pulmonar e diminui a sobrevivência dos indivíduos acometidos. A busca por agentes farmacológicos capazes de inibir essa progressão é de grande importância, e neste contexto, podemos ressaltar o potencial terapêutico de *Musa paradisiaca* frente à LPA.

7 CONCLUSÃO

- A administração do extrato hidroalcólico de *Musa paradisiaca* Linnaeus atenuou a inflamação provocada pelo desafio com LPS em camundongos;
- Foi evidenciada a redução da migração neutrofílica para o parênquima pulmonar, o que resultou no aumento dos espaços alveolares;
- Houve a diminuição da expressão de citocinas pró-inflamatórias, em especial a IL-17, protagonista na patogênese da LPA;
- Observou-se também, uma drástica redução da deposição de fibras colágenas, prevenindo a fibrose pulmonar.

Diante disso, o extrato das inflorescências de *Musa paradisiaca* Linnaeus apresentou um notável potencial terapêutico frente à LPA por atuar inibindo a proteína NF- κ B, além dos produtos oriundos de sua ativação, como o TNF- α e a IL- 17.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PIMM, S. Circulação de leucócitos e migração para os tecidos. In: **Imunologia celular e molecular**. 8. ed. [S. l.: s. n.], 2015. cap. 3.
- AHMED, O. M. *et al.* *Musa paradisiaca* L. leaf and fruit peel hydroethanolic extracts improved the lipid profile, glycemic index and oxidative stress in nicotinamide/streptozotocin-induced diabetic rats. **Veterinary medicine and science**, v. 7, n. 2, p. 500-511, 2021.
- APRIASARI, M. L. *et al.* Anti-inflammatory effect of *Musa acuminata* stem. **European journal of dentistry**, v. 14, n. 02, p. 294-298, 2020.
- ASHBAUGH, D.G. *et al.* Acute respiratory distress in adults. **The Lancet**. v. 290, n. 7511, pág. 319-323, 1967.
- AZAHAR, N. F.; GANI, S. S.A.; MOHD MOKHTAR, N. F. Otimização das condições de extração de fenólicos e flavonoides de folhas de *Curcuma Zedoaria* usando metodologia de superfície de resposta. **Chemistry Central Journal**, v. 11, p. 1-10, 2017.
- BATISTA JÚNIOR, Miguel Luiz *et al.* Anti-inflammatory effect of physical training in heart failure: role of TNF- α and IL-10. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 93, p. 692-700, 2009.
- BERNARDO, L. R. **Avaliação do mecanismo de ação da milonina no modelo murino de lesão pulmonar aguda e estudos *in silico***. 2022. Tese de Doutorado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2022.
- BIORENDER. *BioRender*. Disponível em: <https://biorender.com/>. Acesso em: 08 de setembro de 2024.
- BISWAS, C. *et al.* Efeito do extrato metanólico do suco do caule de *Musa paradisiaca* (LINN) na inflamação aguda induzida quimicamente. **Group**, v. 1, n. 43, p. 2.15, 2012.
- CAVALCANTI, R. F. P. *et al.* Oral administration of *Lactocaseibacillus paracasei* attenuates combined allergic rhinitis and asthma syndrome (CARAS) in mice model: Relevance of short-chain fatty acids on gut-airway axis. **Journal of Functional Foods**, v. 115, p. 106109, 2024.
- CHENG, Y. Z. *et al.* Wound healing is promoted by *Musa paradisiaca* (banana) extract in diabetic rats. **Archives of Medical Science: AMS**, v. 20, n. 2, p. 632, 2024.
- CORREGER, E. *et al.* (2020). Pretreatment with adalimumab reduces ventilator-induced lung injury in an experimental model. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, 32, 58-65.

CULIK, M. A. Xarope do coração de banana para o tratamento dos sintomas de infecções respiratórias. **Revista Scientia Vitae**, v. 1, n. 3, p. 87-90, 2014.

DeCS: Descritores em Ciências da Saúde. São Paulo: BIREME / OPAS / OMS, 2024. Disponível em: <https://decs.bvsalud.org/ths/resource/?id=28155>. Acesso em: 20 jun. 2024. M0012577

DHLAMINI, Q. *et al.* FGF1 alleviates LPS-induced acute lung injury via suppression of inflammation and oxidative stress. **Molecular Medicine**, v. 28, n. 1, p. 73, 2022.

DIAS-FREITAS, F.; METELO-COIMBRA, C.; RONCON-ALBUQUERQUE JR., R. Molecular mechanisms underlying hyperoxia acute lung injury. **Respiratory medicine**, v. 119, p. 23-28, 2016.

DING, Q. *et al.* Role of IL-17 in LPS-induced acute lung injury: an in vivo study. **Oncotarget**, 8(55), 2017.

DONG, W. W. *et al.* Protective effects of hydrogen-rich saline against lipopolysaccharide-induced alveolar epithelial-to-mesenchymal transition and pulmonary fibrosis. **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, v. 23, p. 2357, 2017.

FERREIRA, L. A. M. P. **Efeito do alcaloide Curina nas vias de transdução de sinais TLR4/NFκB em granulócitos do pulmão no modelo experimental de lesão pulmonar aguda**. 2020. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.

FERREIRA, L. A. M. P. *et al.* Morita-Baylis-Hillman adduct 2-(3-hydroxy-1-methyl-2-oxoindolin-3-yl) acrylonitrile (CISACN) ameliorates the pulmonary allergic inflammation in CARAS model by increasing IFN-γ/IL-4 ratio towards the Th1 immune response. **International immunopharmacology**, v. 130, p. 111737, 2024.

FRANCO, M.; REIS, M.; NASCIMENTO, M. (2021). **Bogliolo: Patologia Geral** (10a ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1592p.

GADELHA, F. A. A. F. *et al.* Immunomodulatory properties of *Musa paradisiaca* L. inflorescence in Combined Allergic Rhinitis and Asthma Syndrome (CARAS) model towards NFκB pathway inhibition. **Journal of Functional Foods**, v. 83, p. 104540, 2021.

GRIBAR, S. C. *et al.* No Longer an Innocent Bystander: epithelial toll-like receptor signaling in the development of mucosal inflammation. **Molecular Medicine**, [S.L.], v. 14, n. 9-10, p. 645-659, 17 jun. 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção de Banana**. 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/banana/br>

ITO, J. T. *et al.* Extracellular matrix component remodeling in respiratory diseases: what has been found in clinical and experimental studies? **Cells**, v. 8, n. 4, p. 342, 2019.

KUMAR, V.; ABAS, A.; ASTER, J. C. **Robbins Basic Pathology**. 9. ed. Philadelphia: Elsevier, 2017.

KURNIJASANTI, R.; CANDRARISNA, M. The effect of pisang ambon (*Musa paradisiaca* L.) stem extract on the regulation of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in rats' enteritis. **Iraqi Journal Of Veterinary Sciences**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 407-413, 1 set. 2019.

LIAO, C. H. *et al.* Inhibition of Polyinosinic-Polycytidylic Acid-Induced Acute Pulmonary Inflammation and NF- κ B Activation in Mice by a Banana Plant Extract. **International Journal of Medical Sciences**, v. 21, n. 1, p. 107, 2024.

LIGA, S.; PAUL, C.; PÉTER, F. Flavonoids: Overview of Biosynthesis, Biological Activity, and Current Extraction Techniques. **Plants**, v. 12, n. 14, p. 2732, 2023.

LIMA, W. J. M. *et al.* Obesity influences the development of bisphosphonate-induced osteonecrosis in Wistar rats. **Journal of Applied Oral Science**, v. 31, p. e20230133, 2023.

LIN, S. *et al.* Células T reguladoras e lesão pulmonar aguda: citocinas, inflamação descontrolada e implicações terapêuticas. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 1545, 2018.

LIU, C. *et al.* Synergistic anti-inflammatory effects of peimine, peiminine, and forsythoside a combination on LPS-induced acute lung injury by inhibition of the IL-17-NF- κ B/MAPK pathway activation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 295, p. 115343, 2022.

LIU, P. *et al.* Ferrostatin-1 alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibiting ferroptosis. **Cellular & molecular biology letters**, v. 25, p. 1-14, 2020.

MACEDO, D. B. **Influência da Terapia por Fotobiomodulação no tratamento de condições inflamatórias pulmonares e seu impacto sobre o Covid-19**. 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade Brasil. 2021

MADIGAN, Michael T. *Microbiologia de Brock*. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Tradução de Alice Freitas Versiani et al.; revisão técnica de Flávio Guimarães da Fonseca. ISBN 978-85-8271-298-6.

MAGGI, I. V. C.. **Atividade anti-inflamatória do alcaloide caulerpina em modelo murino de lesão pulmonar aguda induzida por LPS**. 2022. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2022.

MARINHO, R. M.; PASCOAL, G. B. Análise da composição centesimal do coração de bananeira (*Musa paradisiaca*) proveniente de Uberlândia, MG. **Observatório de la economía latinoamericana**, v. 21, n. 12, p. 26215-26226, 2023.

OLIVEIRA, M. T. P. **Nanocápsulas contendo resveratrol: redução da inflamação pulmonar aguda induzida por LPS**. Tese de doutorado. Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, 2019.

OLIVEIRA, R.H. R.; BASILLE FILHO, A. Incidência de lesão pulmonar aguda e síndrome da angústia respiratória aguda no centro de tratamento intensivo de um hospital universitário: um estudo prospectivo. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 32, p. 35-42, 2006.

PEI, H. *et al.* S100A9 exacerbates sepsis-induced acute lung injury via the IL17-NFκB-caspase-3 signaling pathway. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 710, p. 149832, 2024.

PONTES, J. C. X. *et al.* Photodynamic therapy repairs medication-related osteonecrosis of the jaw by reducing NF-κB protein in rats . **Journal of Applied Oral Science**, v. 32, p. e20230447, 2024.

RANIERI, M. V. Acute Respiratory Distress Syndrome. **Jama**, [S.L.], v. 307, n. 23, p. 2526-2533, 20 jun. 2012. American Medical Association (AMA).

REIS, F. F. *et al.* O pré-tratamento com dexametasona atenua a lesão pulmonar experimental induzida pelo ventilador. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 42, p. 166-173, 2016.

RYU, J. K. *et al.* Reconstruction of LPS transfer cascade reveals structural determinants within LBP, CD14, and TLR4-MD2 for efficient LPS recognition and transfer. **Immunity**, v. 46, n. 1, p. 38-50, 2017.

SAGUIL, Aaron; FARGO, Matthew. Acute respiratory distress syndrome: diagnosis and management. **American family physician**, v. 85, n. 4, p. 352-358, 2012.

SANTOS, G. (São Paulo). Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (ed.). **Líder nacional, São Paulo produz 26% da banana do país**. 2023.

SHI, Kun *et al.* Atractylodin modulates ASAH3L to improve galactose metabolism and inflammation to alleviate acute lung injury. **iScience**, 2024.

SILVA, G. O. *et al.* Anti-inflammatory effect of quercetin in a murine model of lipopolysaccharide-induced acute lung injury: a systematic review. **Concilium**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 120-134, 31 jan. 2024.

SIMÕES, R. C. B. et al. Síndrome do desconforto respiratório agudo: definição de Berlim e Ventilação Protetiva. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**, v. 2, n. 8, p. 40-51, 2018.

SUKI, B.; BATES, J. H. T. Extracellular matrix mechanics in lung parenchymal diseases. **Respiratory physiology & neurobiology**, v. 163, n. 1-3, p. 33-43, 2008.

SUL, O. J.; RA, S. W.. Quercetin Prevents LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation by Modulating NOX2/ROS/NF-kB in Lung Epithelial Cells. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 22, p. 1-11, 17 nov. 2021.

VOYCE, I. J. **Lesão aguda pulmonar induzida por choque séptico. A aplicação de células estaminais**. 2015. Dissertação de Mestrado, Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve, 2015.

WANG, J. *et al.* (2014). Anti-inflammatory effects of apigenin in lipopolysaccharide-induced inflammatory in acute lung injury by suppressing COX-2 and NF-kB pathway. **Inflammation**, 37, 2085-2090.

XIANG, Yi et al. Ultrasound-assisted extraction, optimization, and purification of total flavonoids from *Daphnegenkwa* and analysis of their antioxidant, anti-inflammatory, and analgesic activities. **Ultrasonics Sonochemistry**, p. 107079, 2024.

YANG, S. C. *et al.* Understanding the role of neutrophils in acute respiratory distress syndrome. **Biomedical Journal**, v. 44, n. 4, p. 439-446, 2021.

YESUDHAS, D. *et al.* Multiple Roles of Toll-Like Receptor 4 in Colorectal Cancer. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 5, n. 334, p. 1-10, 15 jul. 2014.

ZHANG, F.; FAN, D.; MO, X. N. Prohibitin and the extracellular matrix are upregulated in murine alveolar epithelial cells with LPS-induced acute injury. **Molecular Medicine Reports**, v. 17, n. 6, p. 7769-7773, 2018.

ZHANG, L. *et al.* Pré-condicionamento com dexmedetomidina protege contra lesões induzidas por lipopolissacarídeos em células epiteliais alveolares humanas. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 67, p. 600-606, 2017.

ZHANG, Y. *et al.* (2018). Dexmedetomidine mitigate acute lung injury by inhibiting IL-17-induced inflammatory reaction. **Immunobiology**, 223(1), 32-37.

ZHAO, Yuanrui *et al.* Glucocorticoid therapy for acute respiratory distress syndrome: Current concepts. **Journal of Intensive Medicine**, 2024.