

X
EDUARDO DIAS DE ANDRADE

Este exemplar foi devidamente corrigido de acordo com a resolução CCPE 036/83.

Piracicaba, 15/01/86

MRVizel
ORIENTADOR

EFEITOS ANTIINFLAMATÓRIOS DA BETAMETASONA EM PREPARAÇÕES E
POSOLOGIAS DIFERENTES, ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.

La compta de l'original

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do grau de Doutor em Odontologia, Área de Concentração: Farmacologia.

PIRACICABA

- 1985 -

An24e

6747/BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Aos meus pais e sogros, que através de exemplos de integridade e determinação, proporcionaram-me mais esta oportunidade,

À Maria Isabel, minha esposa, e aos nossos filhos, Cassio e Rafael, por tudo que representam em minha vida,

ofereço este trabalho.

Ao Professor Doutor ^tMÁRIO ROBERTO VIZIOLI,
Titular da área de Patologia da
FOP-UNICAMP,

responsável direto por minha formação científica e
pela orientação segura e objetiva neste trabalho.

o meu reconhecimento e gratidão.

Ao Professor Doutor JOSÉ RANALI,
Assistente Doutor da área de Farmacologia, Anestesiologia e
Terapêutica da FOP-UNICAMP,

que por sua lealdade e despreendimento,
constituiu-se no grande incentivador deste trabalho,

o privilégio de tê-lo como colega e amigo.

A G R A D E C I M E N T O S

Ao Professor Doutor JOSE ARISTODEMO PINOTTI, Magnífico Reitor da UNICAMP, pelo apoio à pesquisa em nosso meio universitário.

Ao Professor Doutor ANTONIO CARLOS NEDER, Coordenador Geral das Faculdades da UNICAMP, pelo apoio irrestrito àqueles que se dedicam ao ensino e à pesquisa dentro da Farmacologia.

Ao Professor Doutor LUIZ VALDRIGHI, Diretor da FOP-UNICAMP, pela oportunidade oferecida e pelo que tem feito a favor de nossa Faculdade.

Ao Professor Doutor SIMONIDES CONSANI, Diretor Associado da FOP-UNICAMP, pelo interesse constante em nossas atividades profissionais.

Ao Professor Doutor AMADO LEONÍSIO DE AZEVEDO, Chefe do Departamento de Ciências Fisiológicas da FOP-UNICAMP, pela amizade e solidariedade sempre presentes.

Ao Professor Doutor LOURENÇO BOZZO, Coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP, pela atenção às nossas solicitações.

Ao Professor Doutor SAMIR TUFIC ARBEX, Coordenador do Curso de Pós-Graduação - Área de Farmacologia, da FOP-UNICAMP, pela grande colaboração administrativa no transcorrer deste trabalho.

Ao Professor Doutor THALES ROCHA DE MATTOS FILHO, pelas valiosas sugestões e auxílio na parte experimental deste trabalho.

Aos colegas da área de Farmacologia, Professores JOÃO LEONEL JOSÉ, JONAS VAZ DE ARRUDA e MARIA DE LOURDES GARBOGGINI DA GAMA, pelo incentivo e amizade constantes.

Ao Professor Doutor FRAB NORBERTO BOSCOLO, Coordenador das Clínicas Odontológicas da FOP-UNICAMP, pela compreensão e apoio.

À Professora Doutora SONIA VIEIRA, pela orientação e correção dos estudos estatísticos.

Aos Senhores ANTONIO KERCHES DE CAMPOS e PEDRO DUARTE NOVAES, Técnicos de Laboratório da área de Patologia, pelo inesquecível auxílio nos procedimentos para com os animais e para com as preparações histológicas.

Ao Senhor ADÁRIO CANGIANI, pela elaboração da documentação fotográfica.

Às Senhoras IVANY DO CARMO GUIDOLIM GEROLA e JUREMA FERRAZ CARDOSO, Bibliotecárias da FOP-UNICAMP, pela organização da revisão bibliográfica.

À Senhora SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLIANI, Secretária dos Cursos de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP, pela atenção dispensada.

Aos funcionários, Senhor MOYSÉS JOSÉ MARIA DA SILVA e Senhora VILMA BIZUTI DOS SANTOS, do Departamento de Ciências Fisiológicas da FOP-UNICAMP, pela boa vontade em atender os serviços requisitados.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram de alguma forma na realização deste trabalho.

Í N D I C E

	P.
Capítulo 1	
INTRODUÇÃO	2
Capítulo 2	
REVISÃO DA LITERATURA	5
Capítulo 3	
PROPOSIÇÃO	27
Capítulo 4	
MATERIAL E MÉTODOS	30
Capítulo 5	
RESULTADOS	35
Capítulo 6	
DISCUSSÃO	56
Capítulo 7	
CONCLUSÃO	69

Capítulo 8

RESUMO 72

Capítulo 9

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 74

APÊNDICE 85

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

"E a inflamação um mecanismo de defesa?" Esta questão constituiu-se no tema central de um debate moderado por BLECHMAN (1975), do qual participaram vários estudiosos do assunto, como SPECTOR, que iniciou a discussão definindo a inflamação como a reação local da microcirculação viva e seu conteúdo à injúria.

BAZERQUE (1978) conceituou a inflamação como uma reação de defesa do organismo contra distintos tipos de agressão, tendo por objetivo limitar a difusão e deter ou eliminar o agente agressor, tratando-se, portanto, de um proceso habitualmente útil e necessário ao organismo. Também VANE & FERREIRA (1979) sugerem que, de um modo geral, a resposta inflamatória pode ser encarada como protetora, isto é, capaz de defender o tecido (e o organismo) contra a presença do estímulo injuriante. Estes mesmos autores ressaltam, entretanto, que alguns mecanismos ditos protetores da inflamação, como por exemplo a fagocitose e a liberação de enzimas proteolíticas lisossomais e não-lisossomais, de acordo com a intensidade, podem se transformar em fenômenos destrutivos, aumentando ainda mais a lesão tecidual.

Diante destas considerações iniciais, que se-
rão melhor abordadas no decorrer deste trabalho, pode-se suge
rir que, às vezes, a inflamação transforma-se numa resposta
desmedida, seja porque persiste mesmo após a remoção da causa,
seja por se traduzir em manifestações exageradas, acarretando
mais prejuízo do que propriamente benefício ao organismo. Um

exemplo clássico desta situação ocorre cotidianamente em clínica odontológica, quando do período pós-operatório de cirurgias que envolvem traumatismos intensos e extensos.

Objetivando-se atenuar, a nível de prevenção, a intensidade destes modelos de resposta inflamatória, tem-se preconizado há tempos o emprego de métodos terapêuticos físicos, aliados ou não à prescrição de fármacos com propriedades antiinflamatórias.

Deste grupo de drogas, destacam-se, pela sua eficácia, os corticosteróides. Apesar de BELLOMI (1958) e posteriormente GREGORI (1975) afirmarem que frente aos efeitos colaterais, em um campo como é aquele da Odontoestomatologia, a administração sistêmica dos corticosteróides não pode encontrar mais do que uma limitada aplicação, estudos recentes têm demonstrado que escolas americanas e européias intensificaram o uso destas drogas em cirurgia oral menor e maior (HOLLEY e HOHL, 1974; VAN DER ZWAN *et alii*, 1982; SKJELBRED e LOKKEN, 1982).

Acredita-se que esta mudança de comportamento possa ser explicada pela divulgação, através de ensaios clínicos e laboratoriais, de novos conceitos relacionados aos mecanismos de ação dos corticóides e aos próprios fenômenos do processo inflamatório.

Tal situação incentivou a realização deste trabalho, num primeiro momento, com animais de laboratório, para testar-se a hipótese de que, utilizando racionalmente os corticosteróides, pode-se maximizar seus efeitos antiinflamatórios benéficos e, ao mesmo tempo, minimizar seus efeitos colaterais indesejáveis.

CAPÍTULO 2
REVISÃO DA LITERATURA

REVISÃO DA LITERATURA

Os efeitos antiinflamatórios dos corticosteróides são bem conhecidos desde que foram isolados e sintetizados. A aplicação clínica do composto E (cortisona) e do composto F (hidrocortisona) no tratamento da artrite reumatóide por HENCH *et alii* (1949) na Clínica Mayo, proporcionaram a estes pesquisadores o Prêmio Nobel de 1950. A partir daí estas drogas passaram a fazer parte do arsenal terapêutico em clínica médica e odontológica.

Em 1956, DOUGLAS & KESBERG já puderam oferecer uma revisão excelente do uso terapêutico dos corticosteróides em Odontologia.

Dois anos após, ROSS & WHITE (1958) publicaram os resultados de uma das primeiras avaliações clínicas da hidrocortisona na prevenção de complicações pós-operatórias em cirurgia oral traumática. O estudo duplo-cego demonstrou uma redução do edema inflamatório estatisticamente significativa quando a hidrocortisona foi empregada.

Ao longo da evolução tecnológica, novos compostos análogos à hidrocortisona foram sintetizados, como por exemplo a prednisona, a prednisolona, a dexametasona e a betametasona, entre outros. As alterações provocadas na estrutura molecular dos corticóides permitiam a síntese de compostos cada vez mais potentes e menos responsáveis por uma série de efeitos colaterais indesejáveis.

NATHANSON & SEIFERT (1964) realizaram um dos ensaios pioneiros com a betametasona em Odontologia. Adminis

traram esta droga a 210 pacientes que foram submetidos a procedimentos cirúrgicos orais extensos. O método, também duplo-cego, foi usado para avaliar o efeito deste corticosteróide sintético em cinco sequelas pós-operatórias: edema, trismo, dor, presença de equimoses e de infecção. Utilizando-se da posologia de 4 comprimidos de 0,6 mg/dia, durante 4 dias (dose total de 9,6 mg), obtiveram como resultados que o grupo tratado com a betametasona apresentou uma incidência e intensidade menores de sequelas pós-operatórias quando comparado com o grupo tratado com placebo e ressaltaram que a redução do edema inflamatório foi marcante.

HOOLEY & FRANCIS (1969) reportaram um estudo clínico com a mesma betametasona, onde a metodologia de estudo foi considerada de alto nível de objetividade, sendo adotada até hoje em diversas pesquisas. Concluíram que os pacientes submetidos a exodontia de terceiros molares inferiores inclusos e que receberam tratamento com placebo, apresentaram um edema inflamatório seis vezes maior que aqueles tratados com a betametasona. Desde 1961 até 1973, estes mesmos autores prescreveram este corticóide a mais de 6000 pacientes, adotando a posologia de 2 comprimidos de 0,6 mg na noite anterior à intervenção cirúrgica e 2 comprimidos de 0,6 mg, 4 vezes ao dia, pós-operatoriamente, sendo que a dose total nunca excedia a 24 comprimidos, ou seja, o equivalente a 14,4 mg.

A partir de 1974, este esquema posológico foi modificado por HOOLEY & HOHL (1974), constituindo-se na administração de 2 comprimidos de 0,6 mg na noite anterior à cirurgia, 1 comprimido de 0,6 mg na manhã do dia da intervenção e 6 mg de betametasona no momento da cirurgia, por via intra

muscular, através de uma preparação de depósito (CELESTONE SOLUSPAN^(R)). A dose total deste novo esquema totalizava 7,8mg.

É possível que, a partir dos resultados deste trabalho, tenha se intensificado o uso de corticosteróides sintéticos por via parenteral em Odontologia, pois MESSER & KELLER (1975) apresentaram uma técnica intramuscular, porém intra-oral, injetando no músculo masseter uma única dose de 4 mg de dexametasona, demonstrando claramente a eficácia deste corticóide na prevenção do edema inflamatório consequente à remoção de terceiros molares inferiores inclusos.

GREENFIELD & CARUSO (1976) depararam-se com os mesmos resultados. Através de um estudo duplo-cego com o emprego de placebo, demonstraram a eficácia da dexametasona na redução de complicações pós-operatórias como o edema, o trismo e a dor, como também na diminuição da incidência de alveolites. Empregaram a via intramuscular e a dose, também única, de 4 mg.

Vários outros autores, trabalhando com corticosteróides em procedimentos cirúrgicos odontológicos, compararam os efeitos antiinflamatórios deste grupo de drogas com aqueles apresentados por pacientes tratados com placebo. Pode-se destacar os ensaios mais recentes, como o de ABREU (1981), que utilizou a betametasona em dose única de 6 mg (preparação de depósito, de liberação lenta), por via intramuscular, imediatamente após a remoção cirúrgica de terceiros molares inclusos e impactados, comprovando mais uma vez a efetividade deste corticóide na prevenção de sequelas pós-operatórias. Tanto é verdade, que tal procedimento, segundo o autor, tornou-se rotineiro nas clínicas da Faculdade de Odontologia de Pira

cicaba-UNICAMP.

Paralelamente, na Dinamarca, no Departamento de Cirurgia Oral e Maxilofacial do Hospital Universitário de Groningen, todos os pacientes que são submetidos à exodontia dos terceiros molares inferiores recebem tratamento com corticosteróide (VAN DER ZWAN *et alii*, 1982). Estes autores relatam que compararam os efeitos antiinflamatórios da betametasona com os de outros antiinflamatórios não esteróides, como o ibuprofen, a indometacina, o ácido niflúmico, a oxifenbutazona, o ácido taxenâmico e a glafenina, concluindo ser o corticosteróide o fármaco mais eficaz na atenuação das sequelas de caráter inflamatório, quando ministrada na dose total de 14,5 mg, por 4 dias, divididas em 4 tomadas, sendo as doses decrescentes.

SKJELBRED & LOKKEN (1982) observaram uma redução em 47% do edema e da dor quando a betametasona era administrada 3 horas após a remoção de terceiros molares inferiores inclusos. Utilizaram este corticosteróide na dose única de 9 mg, por via intramuscular, comparando sua eficácia com a de um placebo (solução salina estéril). Após a obtenção destes resultados, sugeriram que o emprego da betametasona, por um curto período de tempo, constitui-se num valioso aliado farmacológico, ao reduzir as manifestações de uma resposta inflamatória excessiva após injúrias cirúrgicas ou acidentais de tecidos moles e ósseos.

É desnecessário prosseguir na revisão de trabalhos que comprovam a eficácia antiinflamatória dos corticosteróides, especialmente com relação à betametasona, um dos mais potentes, e rever-se outro aspecto de extrema importân

cia no estudo destas drogas e que interessa sobremaneira a esta pesquisa: seus efeitos colaterais.

São bastante conhecidos e também exaustivamente estudados os efeitos indesejáveis dos corticóides, que muitas vezes limitam ou mesmo contra-indicam sua utilização. Amplios estudos de revisão, como os de BELANTI (1978); BAHN (1982); CLAMAN (1983) e OLIVEIRA (1983), são extremamente coerentes em descrever estes efeitos e unânimes em afirmar que a incidência e a gravidade dos mesmos dependem principalmente da droga, da dose, da duração do tratamento e da posologia em pregadas, entre outros fatores.

Um dos eventos mais inconvenientes da corticoideterapia refere-se à supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (H H A). De acordo com BAHN (1982), o corticosteroide natural, a hidrocortisona, é produzida no córtex suprarrenal a partir do colesterol plasmático, na quantidade de 15 a 30 mg/dia, num ritmo frequente e de forma pulsátil (ritmo circadiano). Os níveis plasmáticos alcançam usualmente um pico de aproximadamente 20 µg/ml no início da manhã, ao redor das 8:00 horas. Este nível decresce gradualmente durante o dia, atingindo a um ponto mais baixo por volta das 24:00 horas, quando começa a aumentar novamente. A taxa de secreção de hidrocortisona é controlada através do eixo H H A com inibição por "feed-back".

Ainda segundo BAHN (1982), a causa mais comum de hipofunção relativa glucocorticóide é a supressão do eixo H H A através da suplementação esteróide exógena, curto-circuitando o mecanismo de retroalimentação e resultando muitas vezes em atrofia adrenal, geralmente reversível. Os níveis plas

máticos de esteróides exógenos como um reflexo da dose e da droga, assim como da duração da terapia, seriam os fatores de terminantes. Doses acima dos níveis fisiológicos de aproximadamente 20 mg de hidrocortisona ou seus equivalentes (vide quadro 1), por 5 ou mais dias, podem causar supressão adrenal por dias, meses ou mesmo por 2 anos. O autor também acredita que doses grandes e constantes administradas no período da manhã por 4 dias ou menos são relativamente inócuas numa supressão efetiva e persistente do eixo H H A.

Segundo CLAMAN (1983), quando os glucocorticosteróides são administrados em uma dose pela manhã, o aumento do nível plasmático de esteróide coincide com o nível natural diurno. Este procedimento minimiza a supressão do eixo H H A porque permite uma tarde e noite com um nível esteróide plasmático que coincide com os níveis fisiológicos. Todavia, o alto nível plasmático gerado pelos esteróides exógenos podem eventualmente levar a um "curto-circuito" hipotalâmico, quando de um tratamento prolongado, apesar de ser obscura e controversa a exata duração e doses que produzem tal efeito. Este autor afirma que é virtualmente impossível determinar-se a duração mínima ou a dose máxima que resulta em supressão do eixo H H A, desde que a resposta aos corticosteróides varia de paciente para paciente, destacando-se inclusive que a supressão pode não ser evidente caso o paciente se encontre sob grande "stress" (trauma, cirurgia, infecção, etc.). Conforme preconiza CLAMAN (1983), não é recomendável a utilização de preparações de depósito (de liberação lenta) de corticóides, por via intramuscular, os quais prolongam a supressão do eixo H H A.

HOOLEY & HOHL (1974), fazendo uso de preparações de depósito de betametasona (CELESTONE SOLUSPAN^(R)), já haviam comprovado tal assertiva, acrescentando que os níveis de cortisol endógeno retornavam ao normal 4 dias após a cessação da medicação corticosteróide exógena.

Dentro desta proposta de revisão da literatura, pode-se destacar, de acordo com o quadro 1, algumas das propriedades dos principais corticosteróides de maior utilização clínica:

Quadro 1 - Algumas propriedades de preparações corticosteróides de maior utilização clínica (modificado de CLAMAN, 1983).

	Potência anti- inflamatória	Dose equivalente (em mg)	Meia Vida Plasmática Aproximada (em min.)	Meia Vida Biológica Aproximada (em hs.)
HIDROCORTISONA (cortisol)	1	20	90	8-12
PREDNISONA	4	5	60	12-36
PREDNISOLONA	4	5	200	12-36
METILPREDNISOLONA	5	4	180	12-36
TRIAMCINOLONA	5	4	300	36-72 (?)
DEXAMETASONA	20-30	0,75	100-300	36-72
BETAMETASONA	20-30	0,60	100-300	36-72

Na opinião de CLAMAN (1983), o esquema terapêutico ideal com corticosteróides seria aquele que não provocasse distúrbios no eixo H H A e que não interfere sensivelmente nas variações diurnas dos níveis de cortisol endógeno plasmático, enfatizando que quanto maior a meia vida plasmática da preparação corticóide, mais prolongado é seu efeito no eixo H H A.

De fato, WILLIAMSON (1980) relatou uma depressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal após uma única dose de 8 mg de dexametasona, utilizada em cirurgia oral.

Uma outra propriedade inerente aos corticosteróides, que é de fundamental interesse à presente pesquisa, é aquela relativa à capacidade destas drogas em inibir os processos de reparação animal.

A reparação tecidual de um organismo, embora universal, varia amplamente segundo uma série de fatores, onde se encaixam a espécie animal, a idade, a nutrição, o tipo de tecido a reparar, a presença ou não do estímulo injuriante, etc. Sob a visão objetiva de VANE & FERREIRA (1979), a reação de defesa a um agente agressor inicia-se com a resposta vascular. A vaso-dilatação e o aumento da permeabilidade não só trazem elementos plasmáticos (opsoninas) que podem facilitar a atividade das células fagocitárias, mas também contribuem para diluir ou mesmo neutralizar as substâncias tóxicas ou líticas geradas pelo estímulo injuriante (bactéria, por ex.) ou liberadas pelas células destruídas (enzimas lisossomais, por ex.). Quando a defesa celular estimula o processo, ocorre a remoção do agente agressor e dos restos celulares. Se não houver uma perda fundamental da estrutura tecidual, haverá restauração integral. Entretanto, ocorrendo perda considerável

da estrutura tecidual, esta é substituída por um tecido cicatricial que geralmente impede o desenvolvimento do tecido funcional.

Os fenômenos básicos dos processos de reparação do tecido conjuntivo propriamente dito encontram-se perfeitamente estabelecidos. São inúmeras as pesquisas que comprovam, por exemplo, a cronologia de síntese e maturação do colágeno, em tecidos de granulação obtidos de feridas abertas experimentais ou através da indução artificial em animais por corpos estranhos inertes (MADEEN & PEACOCK Jr., 1968; ROSS, 1968; McMINN & PRITCHARD, 1969; VIZIOLI, 1973; COHEN, LEWIS & RESNIK, 1975; DELAUNAY & BAZIN, 1975; ANDRADE, 1980; JUNQUEIRA, 1983).

A opinião geral dos autores citados no parágrafo anterior, com pequenas variações decorrentes de técnicas de trabalho, é que a síntese de fibras no processo de reparação começa por volta do 4º dia pós-injúria, atingindo o ponto máximo de desenvolvimento entre 14 a 15 dias, decaindo progressivamente após este tempo.

Paralelamente a estes estudos morfológicos e fisiológicos relacionados com a fase proliferativa do processo inflamatório, encontraram-se, na literatura, trabalhos onde a preocupação maior dos autores residiu em analisar a influência de certos fatores, intrínsecos ou extrínsecos, sobre a velocidade de síntese e maturação de colágeno durante a evolução do tecido de granulação.

Desta forma, McMINN & PRITCHARD (1969) descreveram alguns fatores que interferem neste processo, como a idade e o estado nutricional do organismo, as variações de tem

peratura, o maior ou menor suprimento sanguíneo da região afetada, etc.

HEUGHAM & HUNT, 1975; COHEN, LEWIS & RESNIK, 1975, assim como SCHILLING (1976), afirmaram que substâncias como as vitaminas A e C e o zinco propiciam uma reparação tecidual mais rápida.

BODVALL & RAIS (1962) já haviam comprovado também que a infiltração local de anestésicos retarda a cura de feridas, sendo este processo ainda mais inibido se os agentes anestésicos contiverem vaso-constritores.

DURIGHETTO Jr., MATHEUS & MARTINELLI (1978), trabalhando com ratos, concluíram que a aplicação de corrente elétrica de baixa intensidade interfere na reparação cicatricial, provocando aumento do edema, do infiltrado inflamatório e da quantidade de fibroblastos, na fase inicial, e antecipação na maturação do tecido de granulação, na fase final do processo de reparo.

Dentro desta gama de fatores que intervêm na cronologia de síntese e maturação de colágeno, destacam-se os efeitos atribuídos aos corticosteróides. De acordo com a metodologia empregada, os trabalhos científicos trazem resultados ainda um pouco contraditórios com relação a este aspecto.

SANDBERG (1964) estudou o efeito da cortisona na cura de feridas, em ratos, através da medida da resistência tênsil destas feridas em incisões na pele. Observou que o tratamento esteróide durante o período total de cura reduzia esta resistência. Se o tratamento iniciasse 2 dias ou mais após o ato cirúrgico, não ocorria o efeito inibitório. Além disso, concluiu que o pré-tratamento com cortisona, adminis

trada num intervalo livre de 3 dias antes da promoção da lesão não produzia efeitos na velocidade de reparação tecidual.

CHVAPIL (1967) afirma que os corticosteróides exercem um efeito profundamente inibitório na atividade metabólica dos tecidos conjuntivos e nos componentes individuais destes mesmos tecidos.

BAXTER & FORSHAM (1972) emitiram o seguinte conceito: "Os glucocorticóides provocam um efeito enormemente negativo na cura de feridas. O mecanismo básico envolvido inclui uma diminuição da formação de colágeno e, conseqüentemente, da fibroplasia". São inúmeros os autores que, com outras palavras, concordam com este conceito (GOODMAN & GILMAN, 1973; SCHERRER & WHITEHOUSE, 1974; COHEN, LEWIS & RESNIK, 1975; HEUGHAM & HUNT, 1975; LECHAT, 1975; GRELLET & SOUSSALINE, 1975 e SCHILLING, 1976).

Por outro lado, alguns ensaios clínicos e laboratoriais apresentam resultados e conclusões que tornam ainda discutível o conceito emitido por BAXTER & FORSHAM (1972).

NATHANSON & SEIFERT (1964), utilizando-se da betametasona no pós-operatório de cirurgias orais extensas encerram o resumo do trabalho com estas palavras: "A diminuição da incidência e da intensidade das sequelas inflamatórias pós-operatórias leva-nos a crer que a betametasona promove a cura dos tecidos traumatizados".

ABREU (1970), trabalhando com o acetato de metilprednisolona, concluiu que a cura alveolar pós-exodontia, em cães, foi sensivelmente retardada quando os animais receberam o tratamento com este corticosteróide, na dose única de 40 mg, via intramuscular, uma vez por semana, até à época do sa

crifício.

O mesmo ABREU (1981), entretanto, tendo como modelo de estudo a extração de terceiros molares inclusos, em humanos, comparou os efeitos da betametasona, administrada pela via intramuscular, na dose única de 6 mg (preparação de depósito), com os efeitos de um placebo, concluindo através de observações clínicas, que o corticóide empregado não interferiu na cronologia do reparo alveolar quando comparado com o grupo controle.

SKJELBRED & LOKKEN (1982) trabalharam com a betametasona em dose única (9 mg) em humanos, administrada 3 horas após a cirurgia de remoção de terceiros molares inferiores e relataram que a inspeção clínica não revelou nenhum distúrbio no processo de reparação, sugerindo que a utilização de corticosteróides por curto espaço de tempo não interfere na cura de feridas e na reparação óssea.

Não é a mesma a opinião de JUNQUEIRA (1983), que através do estudo histológico do tecido de granulação induzido artificialmente em ratos, observou que a betametasona, dada por via intraperitoneal, na dose única de 0,0428 mg/kg de peso corporal (equivalente a, aproximadamente, metade da dose empregada em humanos), provocou uma profunda inibição do tecido de granulação.

GRELLET & SOUSSALINE (1975) sugeriram que os efeitos dos glucocorticóides sobre a cicatrização cutânea são discutíveis. Estes autores admitem que a aplicação local destas drogas retarda a reparação, mas que por via sistêmica não teriam um efeito clinicamente considerável.

SMALES (1978), utilizando-se sistemicamente do

acetato de deidro corticosterona (25 a 30 mg/kg), estudou os e feitos deste corticóide na reparação de alvéolos dentais de ratos, concluindo, através de observações histológicas, não haver diferença no tempo de cura dos alvéolos dos animais tra tados quando comparados com o grupo controle.

BAHN (1982), fazendo uma ampla revisão da utilização clínica dos glucocorticóides em Odontologia, afirma que estas drogas podem impedir a cura de feridas através de uma degradação efetiva de colágeno.

Jã OLIVEIRA (1983) relata que os corticosteró*i* des dificultam a deposição de fibrina e a proliferação de fibroblastos, conseqüentemente retardando a cicatrização.

Realmente, ANDRADE (1980), por meio de estudos histológicos e histofotométricos, demonstrou que, sob efeito da dexametasona, na dose diária de 0,1 mg/kg, o tecido de gra nulação induzido artificialmente em ratos era sensivelmente i nibido. Sugeriu também que o corticóide não somente deprimia a s*ĩ*ntese de colágeno como também a s*ĩ*ntese de mucopolissac*a* rídeos ácidos (glicosaminoglicans), substâncias estas essenciais para que ocorra a agregação de colágeno sob a forma de feixes. WALI (1983) reafirmou plenamente este conceito.

Para KALKWARF *et alii* (1982), a reparação de feridas é prejudicada durante a terapia corticosteróide exó ge na e isto acarreta uma série de complicações pós-operatórias. Acrescenta ainda que as deficiências na reparação podem ser devidas ao aumento da incidência de infecções ou a processos celulares alterados.

Segundo BOC & PETERSON (1981), "6 mg de dexametasona s*o* dica ou equivalente, administrados 2 a 3 horas antes

da cirurgia na tentativa de obter-se níveis tissulares ótimos no ato cirúrgico e repetidos à cirurgia, sem a necessidade de complementação pós-operatória, é uma dose ideal, pois os efeitos anti-inflamatórios são de grande duração e causam efeitos mínimos na supressão do eixo H H A, na cura de feridas e na resistência às infecções".

ROSS (1968) foi categórico ao afirmar que uma ótima resposta inflamatória surge como sendo um estímulo importante, rápido e não específico para a fibroplasia. Como consequência, um controle adequado, porém nunca inibitório da inflamação, resulta em melhor evolução de um processo tecidual de cura.

Um outro aspecto que mereceu uma atenção especial nesta revisão da literatura foi aquele relativo ao mecanismo de ação dos corticosteróides.

Pode-se iniciar sugerindo que os mecanismos de transporte plasmático destas drogas, após sua absorção, parecem estar plenamente estabelecidos. BAXTER & FORSHAM (1972) explicam que, uma vez absorvido pela corrente circulatória, o corticóide é solúvel o suficiente para ser "carreado" pelo plasma. Não obstante, uma alfa-globulina específica, conhecida por transcortina, liga-se ao corticóide para que se efetue o transporte.

De acordo com OLIVEIRA (1983), 90% da hidrocortisona combina-se reversivelmente com a transcortina e que este complexo funciona como reserva. Os 10% restantes, não ligados, são responsáveis pela atividade farmacológica da droga. Na vigência de níveis elevados, o excesso se combina com a albumina. Os análogos sintéticos, segundo este mesmo autor, pos

suem uma menor afinidade pelas proteínas plasmáticas do que os compostos originais, daí sua maior potência anti-inflamatória.

Trabalhos bastante atualizados, como os de JOHN SON et alii (1982); KALKWARF et alii (1982); KEHRL & FAUCI (1983); OLIVEIRA (1983); CLAMAN (1983); MAILLARD (1984) e PUUSTINEN et alii (1984), propõem que uma vez absorvidos e transportados através do plasma sanguíneo, os corticosteróides irão exercer seus efeitos farmacológicos e para isto, necessitam das chamadas células-alvo. Atravessam a membrana destas células provavelmente por difusão, indo combinar-se, no citoplasma, com receptores proteicos específicos, formando um complexo corticosteróide-receptor. Este complexo, após modificação conformacional, adquire a capacidade de migrar e penetrar no núcleo das células-alvo, onde vai se combinar reversivelmente com locais específicos da cromatina. Em seguida, ocorre a transcrição de um RNA-mensageiro também específico (efeito da ativação de um gene particular), que diretamente produz, agora a nível citoplasmático, uma proteína peculiar que, segundo estes pesquisadores, seria a efetora da ação corticosteróide.

Segundo CLAMAN (1983), este achado pode parecer paradoxal, desde que os corticóides são geralmente considerados como hormônios "catabólicos". Acrescenta ainda que os receptores específicos intracitoplasmáticos para os corticosteróides foram identificados em neutrófilos, linfócitos e eosinófilos de humanos.

BLACKWELL et alii (1980) demonstraram que esta proteína peculiar responsável pelos efeitos da ação corticóide

de pode ser induzida através de glucocorticóides em pulmões de cobaia e leucócitos de ratos e denominaram-na macrocortina (peso molecular de 15.000).

Paralelamente, HIRATA *et alii* (1980) induziram esta proteína em neutrófilos de coelhos. Ela teria um peso molecular de 40.000 e recebeu a denominação de lipomodulina.

De acordo com JOHNSON *et alii* (1982) e GUPTA *et alii* (1984), atualmente não é conhecido se estas proteínas específicas são fragmentos de uma única proteína efetora da ação corticosteróide ou se constituem em duas proteínas diferentes.

Entretanto, é unânime a opinião dos autores em descrever a ação efetora desta ou destas proteínas, que consiste fundamentalmente na inibição de uma enzima, a fosfolipase A₂.

Há um sistema de geração de mediadores inflamatórios que vem sendo exaustivamente estudado nas duas últimas décadas e que parece estar envolvido na maioria dos processos inflamatórios. Este é o sistema dos metabólitos do ácido araquidônico. Trabalhos pioneiros, como os de BERGSTROM, DANIELSON & SAMUELSON (1964); LANDS & SAMUELSON (1968), outros subsequentes, como os de WEEKS (1972); THOMAS & WEST (1974), FLOWER & VANE (1974); VEALE, COOPER & PITTMAN (1977); ROBERT (1977); GREENBERG & PALMER (1978); VANE & FERREIRA (1979), inclusive aqueles que renderam o Prêmio Nobel de 1981 a J.R. VANE e a B. SAMUELSON e ainda artigos de revisão bastante atuais (BRUNE, 1983; CLAMAN, 1983; ARRUDA, 1984; MAILLARD, 1984), descrevem a importância deste sistema de geração de mediadores inflamatórios.

Segundo estes pesquisadores, o ácido araquidônico é um constituinte normal dos fosfolipídios que compõem a membrana celular. Quando ocorre uma injúria da membrana ou há grande atividade metabólica celular, estabelece-se a ativação de uma enzima, a fosfolipase A₂, precursora da liberação de ácido araquidônico livre no citosol. Este ácido pode então ser metabolizado por duas vias de oxidação: a da ciclo-oxigenase e a da lipoxigenase. A direção do processo de oxidação vai depender do tipo celular envolvido. A via lipoxigenase vai gerar como produto final as chamadas leucotrienas, que segundo VANE & FERREIRA (1979), constituem-se num dos mais potentes estímulos de migração leucocitária ao sítio inflamatório. Já o produto final do metabolismo do ácido araquidônico pela via ciclo-oxigenase também vai depender do tipo celular envolvido no processo. Assim é que as células de vários tecidos têm a capacidade de gerar prostaglandinas, do tipo E₂ e F₂α, mas o endotélio vascular gera predominantemente prostaciclina (PGI₂) e por sua vez as plaquetas dão origem às tromboxanas. Isto ocorre porque estas células possuem uma maior quantidade de enzimas que dirigem o processo para o metabólito predominante do ácido araquidônico.

Pode-se observar na figura 1, a ilustração do que foi dito:

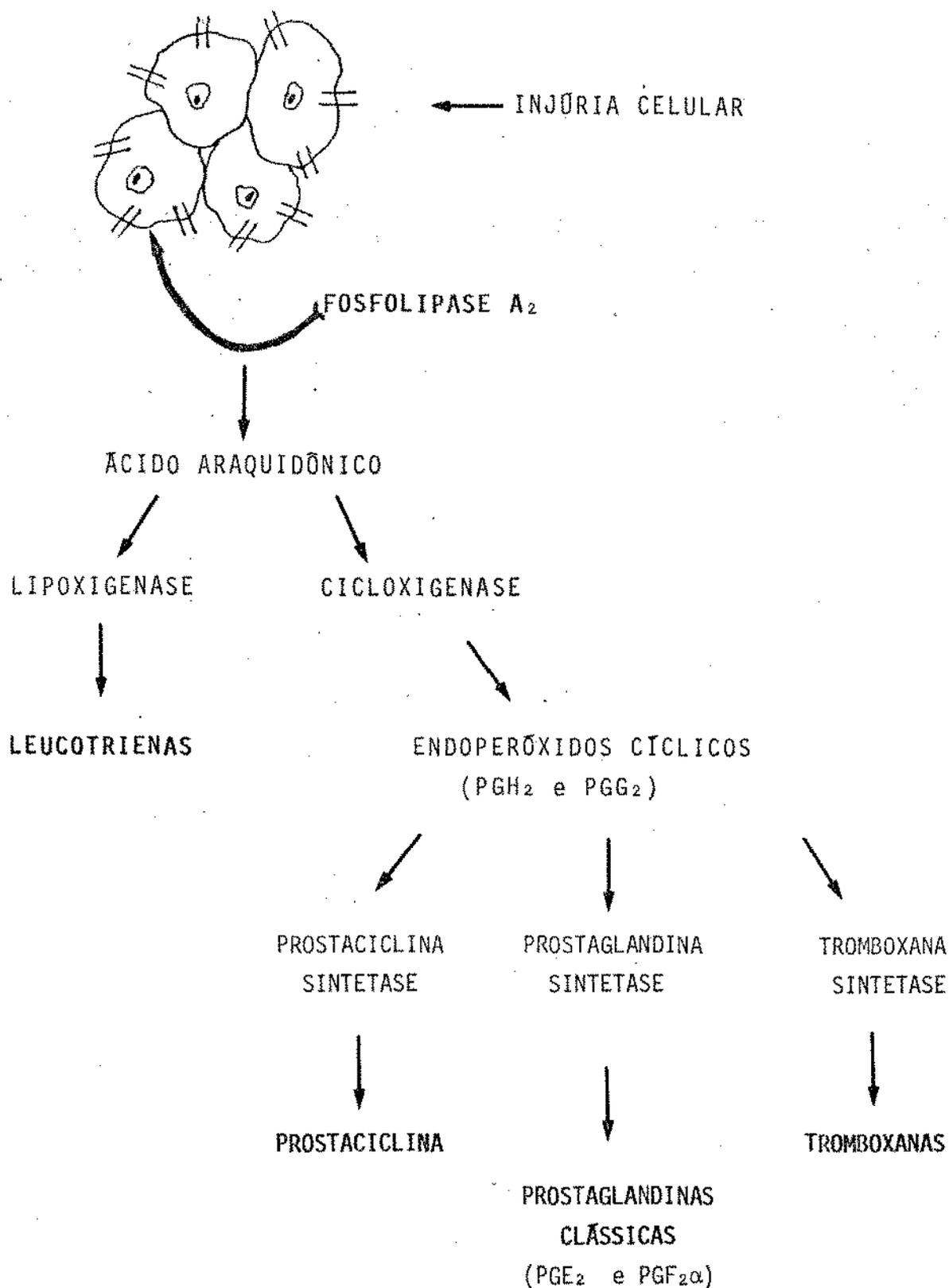


Figura 1 - Vias de metabolização do ácido araquidônico e seus metabólitos (adaptado de MAILLARD, 1984).

Na figura 1, indica-se que antes de ser metabolizado em prostaglandinas clássicas (PGE_2 e $\text{PGF}_2\alpha$), prostaciclina ou tromboxana, o ácido araquidônico passa por dois intermediários que são denominados endoperóxidos cíclicos (PGH_2 e PGG_2). A vida média destas substâncias em solução aquosa é muito pequena e se não houver a intervenção da prostaciclina sintetase ou da tromboxana sintetase, ocorrerá geração espontânea das prostaglandinas clássicas. Estas, por sua vez, potenciam a vaso-dilatação e o aumento da permeabilidade capilar, induzidas pela histamina e pela bradicina, mediadores imediatos da resposta inflamatória (VANE & FERREIRA, 1979).

Este mecanismo de ação atualmente proposto para os corticosteróides, ou seja, a indução da síntese de uma ou mais proteínas que inibem a liberação da fosfolipase A_2 parece ser de extrema importância; entretanto, não invalida outras teorias e comprovações estabelecidas anteriormente e que têm a ver com o modo de ação deste grupo de fármacos.

BAXTER & FORSHAM (1972); LECHAT (1975) e GOLDS TEIN (1975), entre outros, falam a favor da estabilização das membranas lisossomais celulares como uma ação importante dos esteróides na indução de efeitos antiinflamatórios.

Com relação a este aspecto, CLAMAN (1983) relata que os resultados experimentais são algo conflitantes. Estudos primitivos em animais utilizaram altas concentrações de corticosteróides, mas, recentemente, muitos efeitos moderados foram também observados em lisossomas de células humanas com doses farmacológicas clinicamente relevantes.

Por outro lado, ainda de acordo com CLAMAN (1983), parece estar bem demonstrado que os corticosteróides podem i-

nibir a secreção de várias enzimas proteolíticas não lisossomais, denominadas colagenase, elastase e ativador do plasminogênio, que converte o plasminogênio em plasmina. Segundo este autor, o decréscimo da produção destas substâncias pode, dependendo da quantidade, prevenir a destruição de tecido.

Quanto aos efeitos vasculares, SCHAYER (1974) já havia sugerido que as propriedades antiinflamatórias atribuídas aos corticóides poderiam ser explicadas pela habilidade destas drogas em conter a vaso-dilatação provocada por substâncias como a histamina ou similares.

Todavia, SUGIO & TSURUFUJI (1981) demonstraram em tecido de granulação induzido em ratos, que a supressão da exsudação plasmática através da administração de glucocorticóides (dexametasona nas doses de 0,03; 0,1 e 0,3 mg/kg) não é acompanhada por alterações do conteúdo sanguíneo do granuloma e parece não depender de efeitos vaso-constritores.

CLAMAN (1983) admite que os glucocorticóides têm efeitos diretos no sistema vascular quando administrados sistêmica ou topicamente. O extravasamento de fluidos e células do compartimento intravascular para os tecidos circunvizinhos é inibido por estas drogas, sendo este efeito explicado, segundo o autor, pela ação vaso-constritora combinada com a limitação do tráfico de leucócitos, também induzida pelos esteróides.

Prosseguindo com o raciocínio de CLAMAN (1983), os corticosteróides aumentariam a integridade endotelial vascular e diminuiriam a permeabilidade capilar, condições estas significantes em reduzir a marginação de neutrófilos na fase inicial da inflamação.

Finalmente, desde que as cininas plasmáticas, especialmente a bradicinina, possuem um papel significativo na modulação das respostas vasculares, CLAMAN (1983) sugere que os efeitos antiinflamatórios dos esteróides podem também ser devidos à antagonização do sistema das cininas.

CAPÍTULO 3

PROPOSIÇÃO

PROPOSIÇÃO

No intuito de confirmar-se algumas das assertivas anteriormente descritas, bem como testar-se uma nova hipótese no âmbito da terapêutica corticosteróide, propõe-se neste trabalho:

A. Avaliar os efeitos antiinflamatórios da betametasona, quando empregada através de dois esquemas terapêuticos distintos:

1. O cotidianamente utilizado em clínica odontológica cirúrgica, que consiste em uma dose única de 0,1 mg/kg, no pós-operatório imediato, através de uma preparação de depósito de betametasona, por via intramuscular.

2. Outro, original, preconizado pelo autor do presente trabalho, caracterizado por 2 doses iguais de 0,025 mg/kg (dose total de 0,05 mg/kg), administradas 1 hora antes e 4 horas após o traumatismo cirúrgico, utilizando-se da preparação injetável convencional de betametasona, por via intraperitoneal.

B. Comparar os resultados obtidos em 1 e 2. Com base neste confronto, procurar estabelecer qual dos esquemas terapêuticos testados proporciona uma atenuação mais adequada

dos eventos iniciais da inflamação e, ao mesmo tempo, uma menor interferência na evolução do processo de reparação tecidual.

CAPÍTULO 4
MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

1. SELEÇÃO DE ANIMAIS

Foram utilizados para esta pesquisa 45 ratos (*Rattus norvegicus albinus* Wistar), adultos jovens (120 dias), machos, pesando em média 180 g. Os animais foram escolhidos ao nascimento e, após desmamados, alimentados com ração balanceada padrão e água "ad libitum". Atingida a idade desejada, os animais foram submetidos aos procedimentos cirúrgicos.

2. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Após anestesia geral com pentobarbital sódico (NEMBUTAL^(R)), via intraperitoneal, na dose de 40 mg/kg, foi realizada a tricotomia da região dorsal mediana traseira dos animais. Praticou-se, então, incisões lineares de 1,0 x 0,5 cm, com 2 mm de profundidade, através de bisturi e tesoura apropriada, paralelamente ao longo eixo da coluna vertebral, removendo-se um retalho, tornando a ferida aberta. Todos estes procedimentos descritos foram conduzidos sob rigorosas condições de assepsia.

3. DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram então distribuídos em 3 grupos, cada um contendo 15 ratos, que receberam o seguinte tratamento:

GRUPO 1 - Os animais deste grupo foram injetados, via intraperitoneal, com solução salina (cloreto de sódio a 0,9%), em dose única, imediatamente após o ato cirúrgico. Diante disso, foi denominado de grupo controle.

GRUPO 2 - Os ratos pertencentes a este grupo foram injetados com uma preparação de depósito de betametasona¹, via intramuscular, na dose única de 0,1 mg/kg, imediatamente após o ato cirúrgico.

GRUPO 3 - Os animais deste grupo foram injetados com betametasona², via intraperitoneal, na seguinte posologia: 0,025 mg/kg, 1 hora antes dos procedimentos cirúrgicos e 0,025 mg/kg, exatamente 4 horas após a intervenção, perfazendo, portanto, uma dose total de 0,05 mg/kg.

¹- CELESTONE SOLUSPAN - Associação do acetato de betametasona, éster pouco solúvel, com o fosfato dissódico de betametasona, éster altamente solúvel - Ind. Química e Farmacêutica Schering S/A.

²- CELESTONE INJETÁVEL - 9 alfa-fluor 16 beta-metil prednisona (betametasona) - Ind. Química e Farmacêutica Schering S/A.

4. SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS E TEMPOS DE ESTUDO

Sob anestesia geral com éter sulfúrico, três animais de cada grupo foram sacrificados 6 horas, 24 horas, 7 dias, 14 dias e 21 dias após o término dos procedimentos cirúrgicos. Um pouco antes do sacrifício dos animais, foram obtidos os materiais para estudo, através da remoção da área de tecido injuriado, sempre tomando-se a precaução de obter-se na mesma peça, tecido sadio circunvizinho.

5. MÉTODOS DE ESTUDO

5.1. EXAME HISTOLÓGICO

Uma vez removidos os tecidos para estudo, estes foram rapidamente lavados em solução fisiológica e fixados em formol cálcio a 10%, durante 24 horas, à temperatura ambiente. Após a fixação, os tecidos receberam o tratamento técnico histológico de rotina, foram corados com hematoxilina-eosina e examinados ao microscópio ótico.

5.2. EXAME HISTOMÉTRICO

Com o auxílio de uma lente ocular integradora (Kpl-W 10 X), em imersão e no aumento de 1000 X, foi realizada a contagem de fibroblastos dos tecidos obtidos dos três grupos experimentais. A computação foi feita com base no número de impactos nas intersecções das linhas horizontais e verticais da ocular sobre o núcleo dos fibroblastos, de acordo

com a técnica preconizada por NASCIMENTO, BARRETO & BOZZO (1983).

De cada grupo foram tomadas amostras de 3 animais diferentes e examinados 3 cortes histológicos de cada um deles. Em cada corte foram computados 10 campos diferentes, aleatórios, desprezando-se aqueles relacionados intimamente com as bordas da ferida cirúrgica.

É importante ressaltar-se que estas observações foram realizadas nos cortes de tecidos obtidos aos 7, 14 e 21 dias de estudo, ou seja, na fase proliferativa do processo inflamatório.

Os dados obtidos foram posteriormente submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS

RESULTADOS

1. EXAME HISTOLÓGICO (COLORAÇÃO COM H.E.)

1.1. 6 HORAS APÓS O ATO CIRÚRGICO

Tomando-se por base os tecidos obtidos dos animais do grupo 1, denominado controle, e injetados com salina, pôde-se observar neste tempo de estudo os fenômenos clássicos da fase inicial da resposta inflamatória. Na área de lesão, observaram-se vasos sanguíneos dilatados e hiperemiados. Leucodiapedese de grande intensidade, com predominância de neutrófilos, que acumularam-se principalmente próximos às bordas da ferida. Notou-se também a exsudação plasmática com alguma quantidade de fibrina.

Com relação ao grupo 2, que forneceu os tecidos de animais tratados com uma dose única de 0,1 mg/kg de betametasona, no pós-operatório imediato, observou-se os mesmos padrões descritos para o grupo 1, porém com menor intensidade, especialmente com relação à quantidade de fagócitos polimorfonucleares.

Dos tecidos estudados, os pertencentes ao grupo 3, obtidos de animais tratados com a betametasona em duas doses iguais de 0,025 mg/kg (administradas 1 hora antes e 4 horas após o ato cirúrgico), foram aqueles nos quais ocorreu uma maior inibição dos fenômenos iniciais da inflamação. Como pode se notar na figura 2, foto 3, e em maior aumento, na figura 3, foto 3, a exsudação de plasma bem como o acúmulo de neutrófilos estão claramente deprimidos.

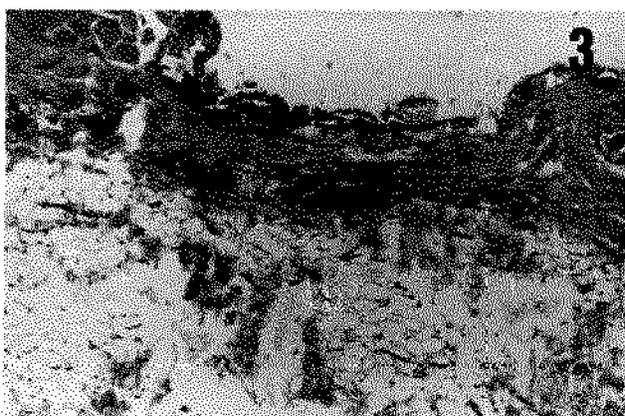
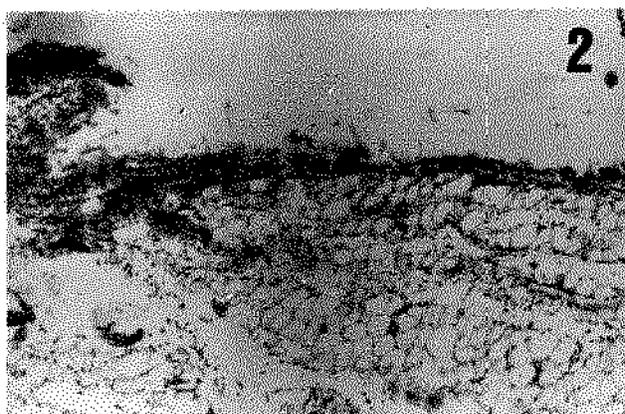
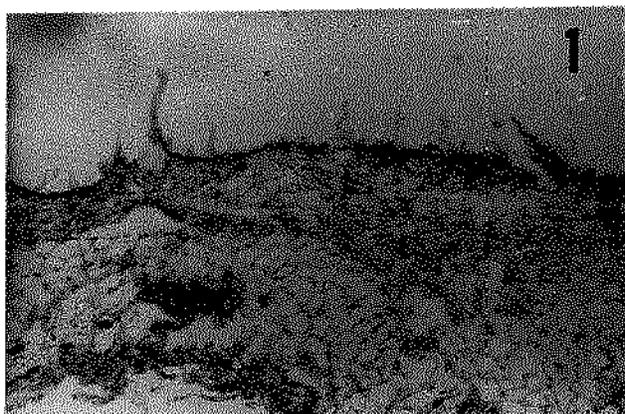


Figura 2 - Tecidos obtidos de animais dos diferentes grupos, 6 horas após o ato cirúrgico. Notar a inibição da diapedese leucocitária na foto 2 (grupo 2) e especialmente na foto 3 (grupo 3). Aumento original - 78 X.

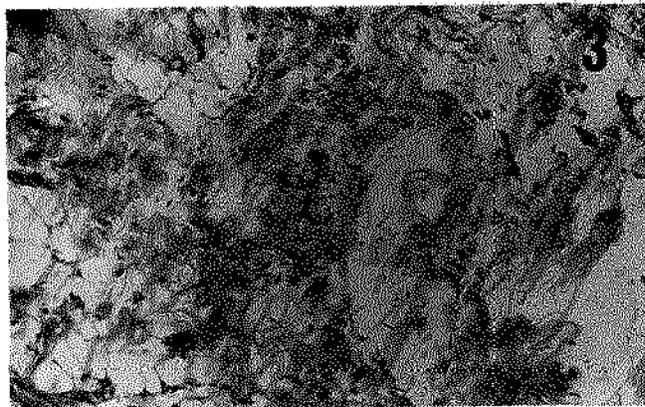
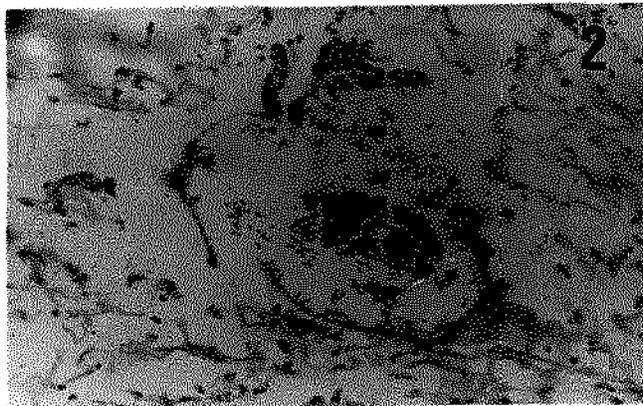
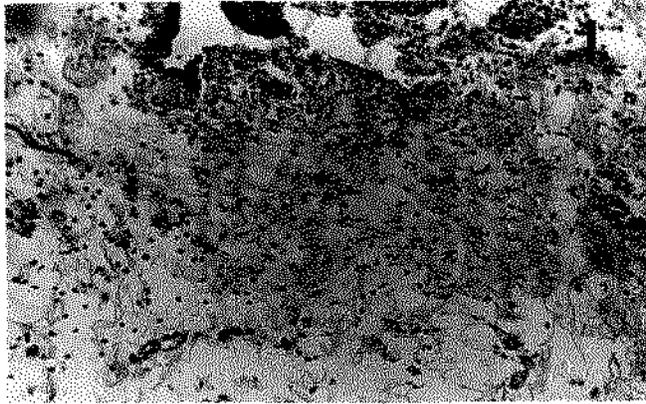


Figura 3 - Os mesmos tecidos, no aumento original de 200 X. Observa-se a diminuição do número de neutrófilos nos tecidos inflamados tratados com o corticóide (fotos 2 e 3).

1.2. 24 HORAS APÓS O ATO CIRÚRGICO.

Os mesmos fenômenos da fase exsudativa-vascular da resposta inflamatória, descritos no item anterior, são também observados neste tempo de estudo. Os tecidos provenientes dos animais do grupo controle apresentam uma acentuada vaso-dilatação e hiperemia ativa. O exsudato inflamatório é rico em fibrina e leucócitos. Estes acumulam-se em grande quantidade ao redor dos vasos e nas bordas da ferida, como mostram as figuras 4 e 5 (fotos de número 1), onde existe maior quantidade de tecido necrótico.

Os tecidos de ambos os grupos (2 e 3), obtidos de animais tratados com a betametasona, apresentam ainda uma inibição dos parâmetros descritos no parágrafo anterior. Pode-se acrescentar que além da diminuição da quantidade de fagócitos oriundos dos vasos sanguíneos, parece haver uma falta de direcionamento destas células às bordas da ferida, que contém grandes massas de "debris" inflamatórios que necessitam ser fagocitados e digeridos. Para melhor esclarecimento, observe-se as figuras 4 e 5.

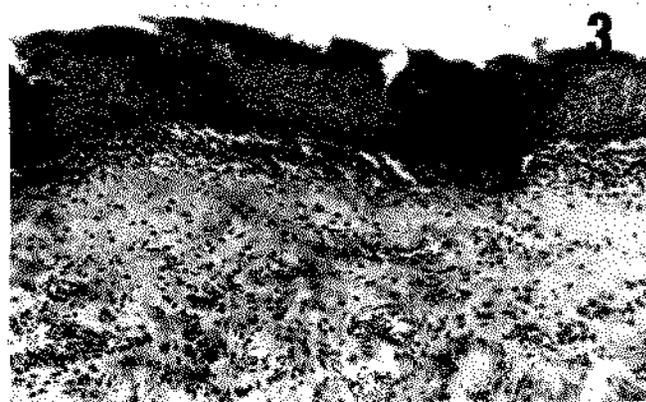
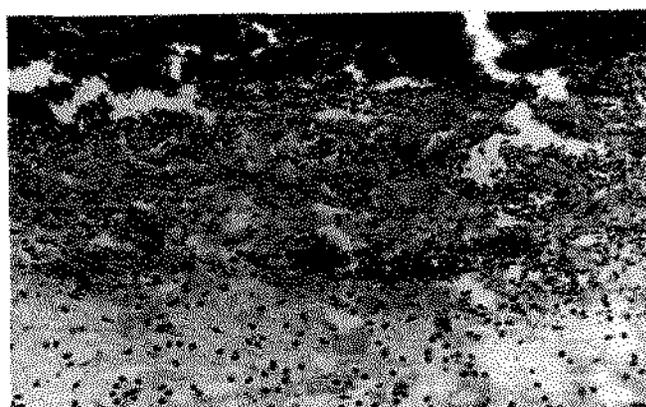


Figura 4 - Tecidos obtidos 24 horas apōs o ato cirūrgico. Observar (seta) o melhor direcionamento dos fagōcitos ās bordas da ferida, nos tecidos do grupo controle (foto 1). Aumento original - 78 X.

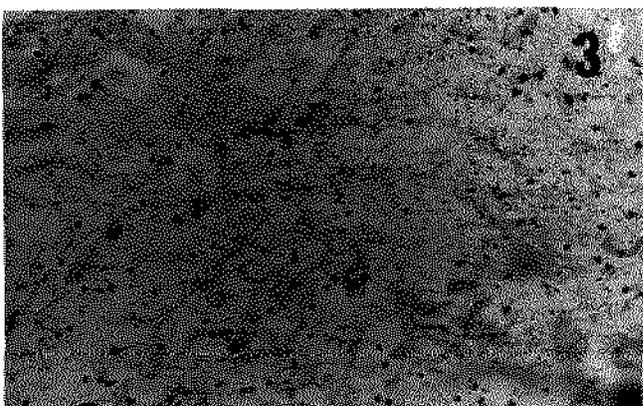
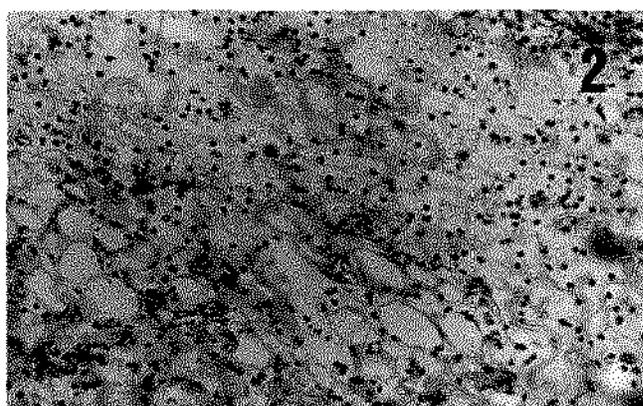
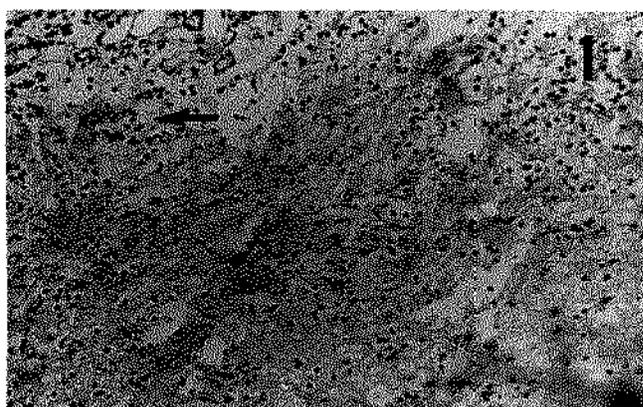


Figura 5 - Os mesmos tecidos, às 24 horas de estudo, no aumento original de 200 X. Observe-se (seta) o acúmulo de leucócitos na foto 1 e compare-se a quantidade destas células com aquelas observadas nas fotos 2 e 3, agora sob efeito da betametasona.

1.3. 7 DIAS APÓS O ATO CIRÚRGICO

Conforme as figuras 6 e 7, pode-se observar os fenômenos básicos que caracterizam a fase proliferativa do processo inflamatório. Tomando-se por referência os tecidos obtidos dos animais do grupo 1 (fotos de nº 1), que não receberam tratamento medicamentoso, nota-se um exuberante tecido de granulação, rico em vasos neoformados, com uma intensa proliferação de fibroblastos e células mesenquimais indiferenciadas. A presença de grande quantidade de colágeno sugere uma grande atividade fibroblástica.

Analisando-se comparativamente os aspectos dos tecidos dos grupos 2 e 3, obtidos de ratos tratados com a betametasona, pode-se observar um tecido de granulação mais incipiente, especialmente com relação à população de fibroblastos, como se pode ver na figura 6 (fotos 2 e 3). Acrescenta-se ainda a manutenção de um infiltrado de células inflamatórias, especialmente próximo às bordas da ferida. De um modo geral, esta inibição parece ter sido mais acentuada nos tecidos tratados com a betametasona na dose única de 0,1 mg/kg (preparação de depósito).

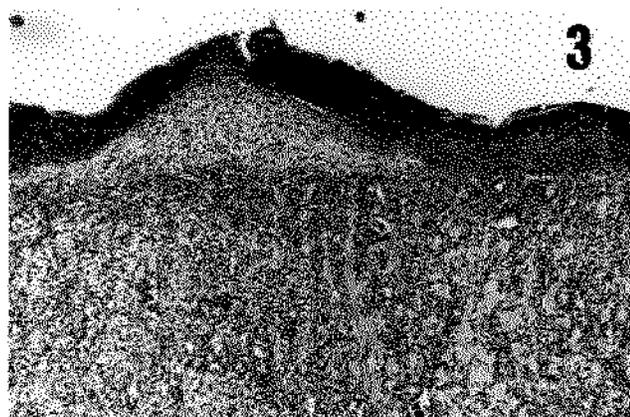
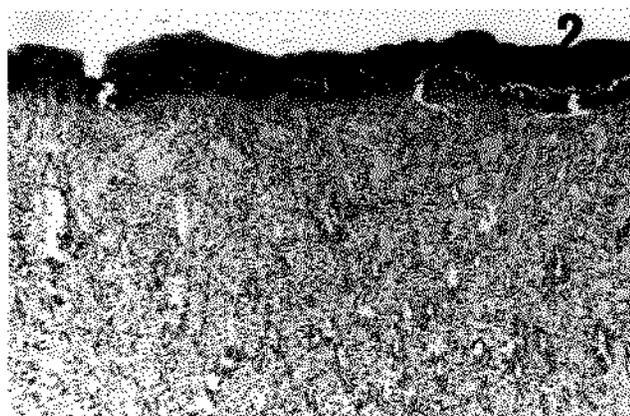
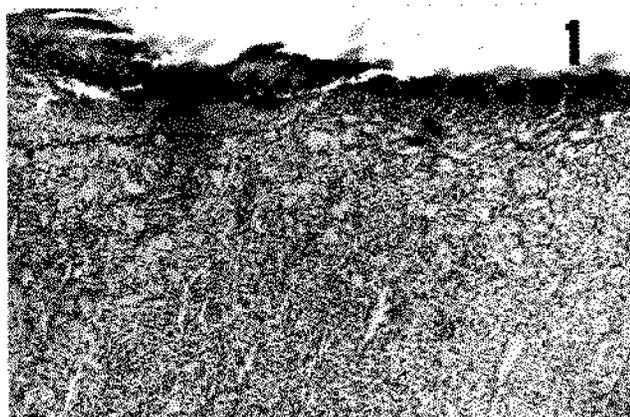


Figura 6 - Tecidos obtidos aos 7 dias pós-operatórios. Esta visão geral demonstra a discreta inibição do tecido de granulação dos animais dos grupos 2 e 3 (fotos 2 e 3). Aumento original - 78 X.

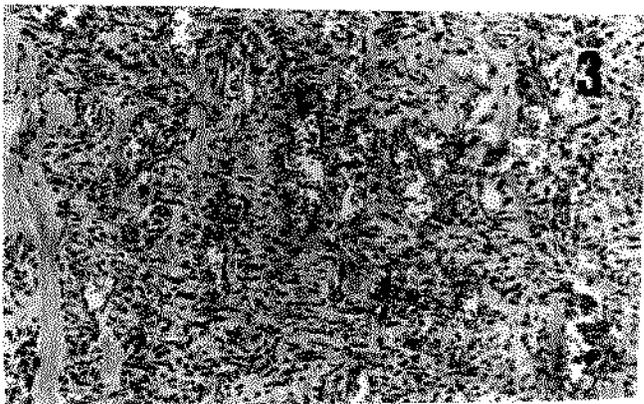
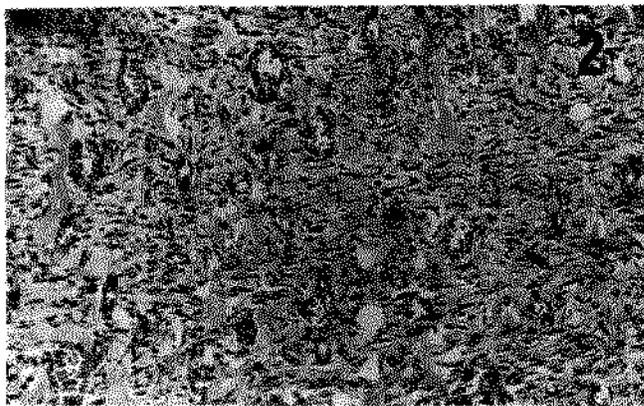
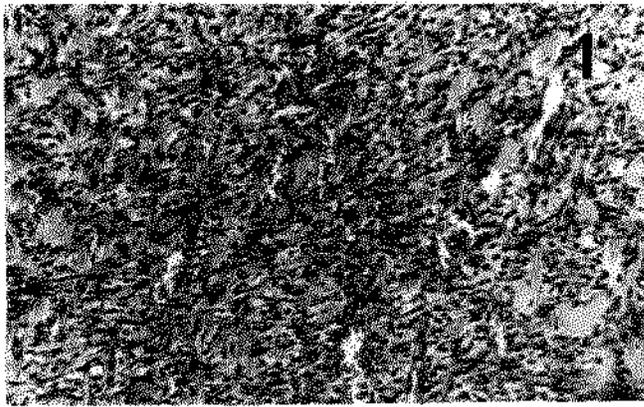


Figura 7 - Os mesmos tecidos, aos 7 dias, no aumento original de 200 X.Observe-se que, a grosso modo, a inibição da quantidade de fibroblastos parece ser maior nos tecidos pertencentes ao grupo 2 (foto 2).

1.4. 14 DIAS APÓS O ATO CIRÚRGICO

O aspecto dos tecidos, dentro dos diferentes grupos, neste tempo de estudo, foi o seguinte:

Grupo 1 - tecido de granulação demonstrando maior maturidade, com uma predominância de colágeno em relação à população de fibroblastos e à neoformação vascular. Observe-se na foto 1, da figura 8, que o epitélio já se encontra refeito, recobrando totalmente o tecido de reparação.

Grupo 2 - o reparo da ferida ainda encontra-se retardado, indicado pela presença de capilares sanguíneos hiperemiados e menor quantidade de colágeno. Na foto 2, da figura 8, nota-se o atraso do epitélio em recobrir a ferida, e na foto 2, da figura 9, a persistência de um discreto infiltrado de células inflamatórias.

Grupo 3 - também aqui os tecidos obtidos de animais tratados com a betametasona (dose total de 0,05 mg/kg), apresentaram um certo grau de inibição, porém com menor intensidade que aquele observado nos tecidos do grupo 2. A foto 3, da figura 8, demonstra o tecido de granulação quase que recoberto por epitélio e num maior aumento, na foto 3, da figura 9, um aspecto geral dos componentes do tecido de reparo bastante semelhante ao observado naqueles do grupo controle, que não se submeteram aos efeitos do corticosteróide.

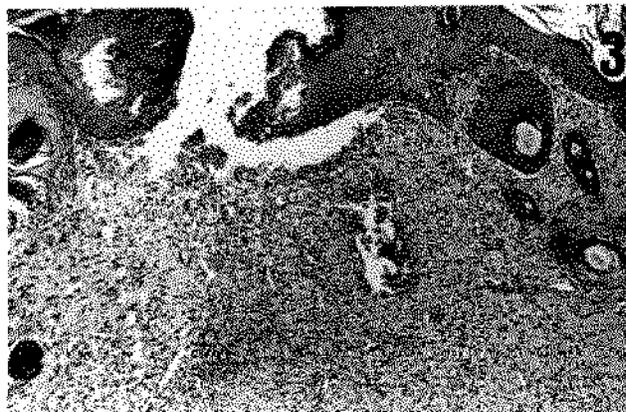
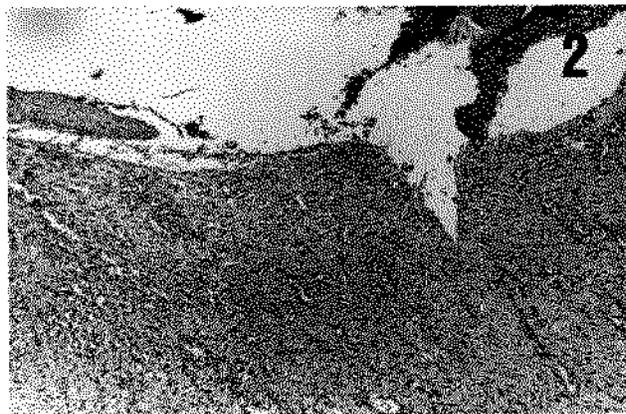
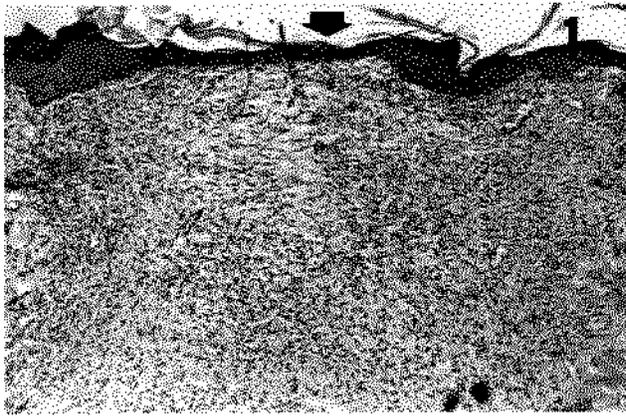


Figura 8 - Tecidos de granulação aos 14 dias de estudo. Observar na foto 1 (seta) que o epitélio recobre o tecido de reparo. O mesmo não ocorre nos tecidos do grupo 3 (foto 3) e principalmente nos do grupo 2 (foto 2). Aumento original - 78 X.

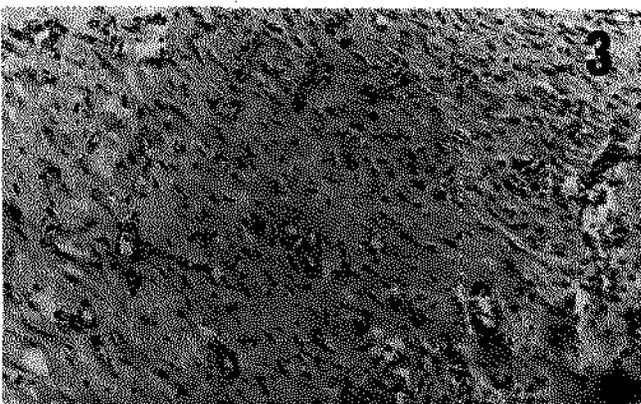
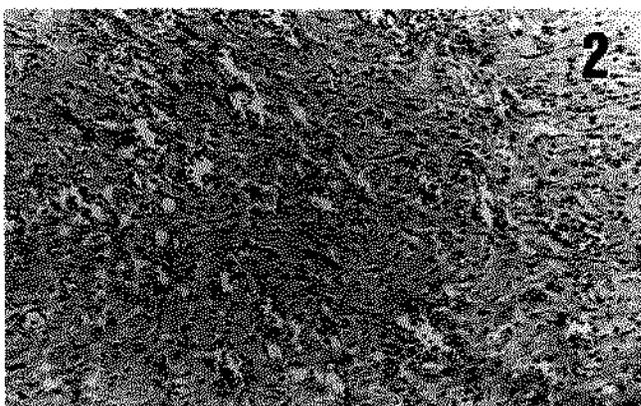
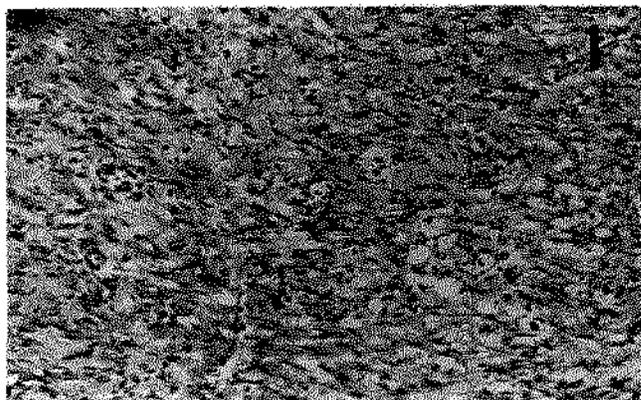


Figura 9 - Os mesmos tecidos no aumento original de 200 X. Notar a quantidade de vasos sanguíneos que persiste nos tecidos do grupo 2.

1.5. 21 DIAS APÓS O ATO CIRÚRGICO

Após três semanas de evolução, as diferenças entre os três grupos, quanto ao grau de maturação dos tecidos foram proporcionais às aquelas descritas nos tempos de 7 e 14 dias, se bem que com menor intensidade. Macroscopicamente não se observou nenhuma diferença quanto ao aspecto do material obtido; já a nível microscópico, pode-se notar que ainda persiste uma diferença entre a arquitetura do tecido de reparação obtidos do grupo 1 (controle) e aqueles obtidos dos grupos 2 e 3. A figura 10 ilustra claramente estas diferenças. Enquanto na foto 1 pode-se ver um tecido em quase tudo semelhante ao tecido circunvizinho, inclusive com a formação de tecido granular e folículos pilosos, as fotos 2 e 3 documentam um tecido de reparo em fase final de remodelação, pobremente celular, mas que não atingiu a qualidade ideal após 21 dias de evolução.

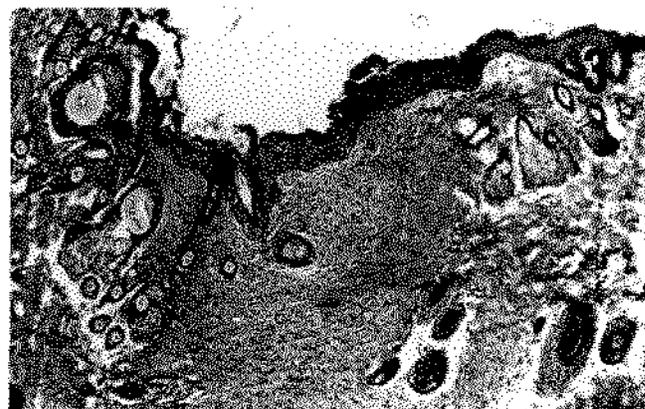
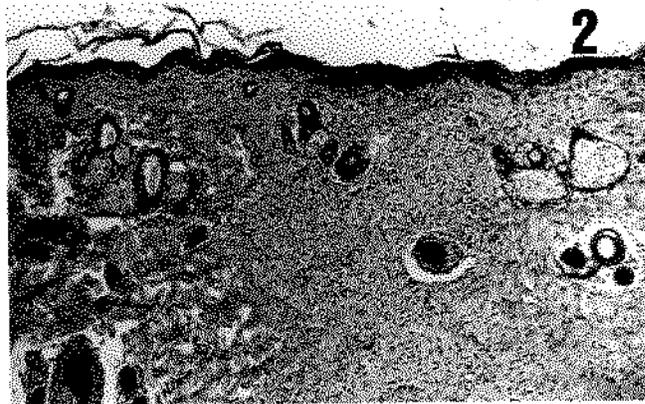
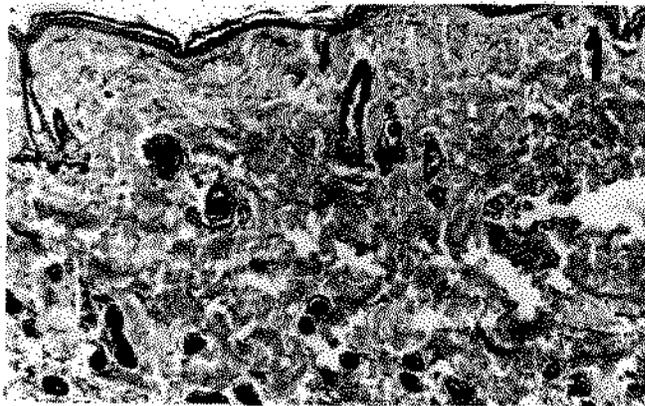


Figura 10 - Tecidos dos diferentes grupos obtidos aos 21 dias de estudo. Observar que os tecidos dos grupos 2 e 3 (fotos 2 e 3) apresentam um retardo em sua evolução quando comparados com o do grupo controle (foto 1). Aumento original - 78 X.

2. EXAME HISTOMÉTRICO

Nas tabelas 1, 2 e 3 estão apresentados os valores médios do número de fibroblastos, por rato e por grupo, e suas respectivas médias, nos tempos respectivos de 7, 14 e 21 dias de estudo. Estes dados foram obtidos através de contagem feita com a lente ocular integradora, em imersão e no aumento de 1000 X, e então submetidos à análise de variância (tabelas 1.a, 2.a e 3.a) e ao teste de Tukey.

Tabela 1 - Valores médios do número de fibroblastos e as respectivas médias, computados de lâminas histológicas obtidas de três animais de cada grupo, aos 7 dias de estudo.

GRUPO	1 (controle)	2 (betametasona) 0,1 mg/kg	3 (betametasona) 0,05 mg/kg
	4,20	1,60	3,10
	4,40	1,60	3,30
	4,20	1,80	3,20
MÉDIA	4,27	1,66	3,20

Os dados apresentados na tabela 1 foram submetidos a uma análise de variância com um critério de classificação, conforme mostra a tabela 1.a.

Tabela 1.a - Análise de variância relativa aos dados da tabela 1.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPO	2	10,25	5,125	384,38
RESÍDUO	6	0,08	0,0133	
TOTAL	8	10,33		

O valor de F, apresentado na tabela 1.a, é significante ao nível de 5%. Para comparar as médias de grupos, duas a duas, foi aplicado o teste de Tukey. O valor da diferença mínima significante (d.m.s.), ao nível de 5%, obtido através deste teste, é 0,28. Com base neste resultado, pode-se afirmar que, em média, o número de fibroblastos computados nas lâminas do grupo 1 é maior que aquele obtido nos grupos 2 e 3. Também se pode afirmar que, em média, o número de fibroblastos computados nas lâminas do grupo 3 é maior que aquele obtido para o grupo 2.

Tabela 2 - Valores médios do número de fibroblastos e as respectivas médias, computados de lâminas histológicas obtidas de três animais de cada grupo, aos 14 dias de estudo.

GRUPO	1 (controle)	2 (betametasona) 0,1 mg/kg	3 (betametasona) 0,05 mg/kg
	1,40	2,70	1,70
	1,40	2,50	1,80
	1,50	2,60	1,70
MÉDIA	1,43	2,60	1,73

Os dados apresentados na tabela 2 foram submetidos a uma análise de variância com um critério de classificação, conforme mostra a tabela 2.a.

Tabela 2.a - Análise de variância relativa aos dados da tabela 2.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPO	2	2,20	1,10	183,33
RESÍDUO	6	0,04	0,0060	
TOTAL	8	2,24		

O valor de F, apresentado na tabela 2.a, é significativo ao nível de 5%. Aplicado o teste de Tukey, o valor da diferença mínima significativa, obtido ao nível de 5%, é 0,17. Este resultado permite afirmar que, em média, o número de fibroblastos computados nas lâminas do grupo 2 é maior que aquele obtido nos grupos 1 e 3. Também se pode afirmar que, em média, o número de fibroblastos computados nas lâminas do grupo 3 é maior que aquele obtido para o grupo 1.

Tabela 3 - Valores médios do número de fibroblastos e as respectivas médias, computados de lâminas histológicas obtidas de três animais de cada grupo, aos 21 dias de estudo.

GRUPO	1 (controle)	2 (betametasona) 0,1 mg/kg	3 (betametasona) 0,05 mg/kg
	0,80	1,10	1,00
	0,80	1,30	1,20
	0,70	1,30	1,10
MEDIA	0,76	1,23	1,10

Os dados apresentados na tabela 3 foram submetidos a uma análise de variância com um critério de classificação, conforme mostra a tabela 3.a.

Tabela 3.a - Análise de variância relativa aos dados da tabela 3.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPO	2	0,34	0,17	17,00
RESÍDUO	6	0,06	0,01	
TOTAL	8	0,40		

O valor de F, apresentado na tabela 3.a, é significativo ao nível de 5%. Aplicado o teste de Tukey, o valor da diferença mínima significativa, ao nível de 5%, obtido através deste teste, é 0,21. Com base nesse resultado, pode-se afirmar que, em média, o número de fibroblastos computados nas lâminas do grupo 2 é maior que aquele obtido nos grupos 1 e 3. Também se pode afirmar que, em média, o número de fibroblastos computados nas lâminas do grupo 3 é maior que aquele obtido para o grupo 1.

CAPÍTULO 6
DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

Os resultados desta pesquisa passarão a ser discutidos em dois momentos distintos: inicialmente, os achados obtidos na fase exsudativo-vascular da resposta inflamatória (observados nos tempos de estudo de 6 e 24 horas pós-operatórias) e, posteriormente, aqueles relativos à fase proliferativa do mesmo processo, estudados aos 7, 14 e 21 dias.

1. FASE EXSUDATIVO-VASCULAR

De acordo com o previsto e confirmando o conceito emitido por SPECTOR (apud BLÉCHMAN, 1975), uma vez provocado o traumatismo cirúrgico na pele dos animais, a microcirculação viva do local e seu conteúdo responderam prontamente à injúria, resposta esta caracterizada basicamente pela dilatação e aumento da permeabilidade vascular, pela exsudação de fluidos e pela leucodiapedese.

Uma outra expectativa também confirmada, foi com relação à inibição dos eventos inflamatórios desta fase inicial quando os animais foram tratados com a betametasona. De acordo com a descrição dos resultados obtidos nos tempos de 6 e 24 horas pós-operatórias, documentados nas figuras 2, 3, 4 e 5, pode-se avaliar qualitativamente a eficácia da betametasona, em ambos os esquemas terapêuticos testados, em atenuar a resposta inflamatória, ratificando a opinião de vários autores que já haviam trabalhado com este corticosteróide sintético (NATHANSON & SEIFERT, 1964; HOOLEY & FRANCIS, 1969; HOO

LEY & HOHL, 1974; ABREU, 1981; VAN DER ZWAN *et alii*, 1982; SKJELBRED & LOKKEN, 1982).

Com relação a esta inibição, o primeiro aspecto a ser discutido diz respeito à quantidade de leucócitos, representados em sua quase totalidade por neutrófilos e monócitos, que abandonaram os vasos e acumularam-se nos tecidos. O número destes fagócitos, observados naqueles tecidos sob efeito da betametasona, foi menor que o observado nos do grupo controle. Estes achados estão de acordo com a opinião de CLAMAN (1983), que emitiu o seguinte conceito: "a diminuição do acúmulo de neutrófilos, combinada com a redução do acúmulo de monócitos macrófagos no sítio da inflamação, pode representar o maior mecanismo antiinflamatório dos glucocorticóides".

Segundo este autor, o mecanismo tem fundamento, pois admite que os corticosteróides têm efeitos diretos no sistema vascular, aumentando a integridade endotelial e diminuindo a permeabilidade dos vasos, condições estas significantes em reduzir a marginação, adesão e emigração de leucócitos na fase inicial da inflamação.

Como se sabe, o objetivo primordial da leucodiapedese nesta fase reside em estabelecer o também conhecido processo de fagocitose e digestão enzimática. Nesta etapa, ocorre a liberação pelos fagócitos de enzimas lisossomais e não lisossomais (colagenase, elastase e plasminogenase), que são responsáveis pela lise do tecido no qual a inflamação ocorre. Portanto, de acordo com a intensidade da liberação enzimática, a destruição tecidual é agravada por este mecanismo dito "protetor", a fagocitose.

Paralelamente a este raciocínio, pode-se relem

brar que quando ocorre injúria da membrana ou há grande atividade metabólica celular, como ocorreu no modelo de estudo desta pesquisa, estabelece-se a liberação de uma enzima no foco inflamatório, a fosfolipase A_2 , precursora da síntese de ácido araquidônico e conseqüentemente de seus principais metabólitos, as prostaglandinas e as leucotrienas.

Segundo VANE & FERREIRA (1979), as leucotrienas constituem-se num dos mais potentes agentes quimiotáticos para neutrófilos que se conhece. As prostaglandinas clássicas (PGE_2 e $PGF_{2\alpha}$), por sua vez, são mediadores mediatos da inflamação, possuindo a propriedade de potenciar os efeitos vasculares produzidos pelos mediadores imediatos, como a histamina e a bradicinina, além de, por si sô, induzirem hiperalgesia.

Diante dessas considerações, acredita-se encontrar suporte suficiente na literatura para explicar a inibição da exsudação plasmática e do acúmulo de neutrófilos observada nos tecidos dos animais tratados com a betametasona, pois segundo inúmeros pesquisadores, os corticosteróides possuem, indiretamente, a propriedade de inibir a fosfolipase A_2 , diminuindo conseqüentemente a síntese de leucotrienas e de prostaglandinas clássicas (BLACKWELL *et alii*, 1980; HIRATA *et alii*, 1980; JOHNSON *et alii*, 1982; KALKWARF *et alii*, 1982; KEHRL & FAUCI, 1983; OLIVEIRA, 1983; CLAMAN, 1983; MAILLARD, 1984; PUUSTINEN *et alii*, 1984; GUPTA *et alii*, 1984).

Neste momento é importante discutir-se um pouco mais o esquema proposto na figura 1 deste trabalho, pois de acordo com VANE & FERREIRA (1979), o ácido araquidônico pode ser metabolizado por duas vias de oxidação, e a direção deste processo vai depender do tipo celular envolvido. Assim

é que, através da via ciclo-oxigenase, as células teciduais geram prostaglandinas do tipo E_2 e $F_{2\alpha}$, mas o endotélio vascular gera predominantemente prostaciclina (PGI_2) e as plaquetas dão origem às tromboxanas. Isto ocorre porque estas células possuem uma maior quantidade de enzimas que direcionam o processo para o metabólito predominante do ácido araquidônico.

Este jogo bioquímico estabelecido pela natureza certamente deve ter um valor funcional. Segundo os mesmos autores, a tromboxana gerada pelas plaquetas constitui-se num potente fator de vaso-constricção e de agregação plaquetária e, em contraposição, a prostaciclina gerada pelas células endoteliais possui a capacidade de vaso-dilatação, de evitar a agregação plaquetária, potenciar a formação de exsudato inflamatório e causar hiperalgesia. A agregação plaquetária é um fenômeno importante quando ocorre ruptura vascular, pois sem a formação de tampão plaquetário ocorreria sangramento contínuo da rede capilar. Por outro lado, se o estímulo injuriante não acarretar ruptura, mas apenas lesão vascular, o endotélio gera prostaciclina que evitará a obstrução pela formação de trombos. Além do mais, a prostaciclina participa do processo inflamatório, ao induzir hiperalgesia e potenciar a formação de exsudato.

Diante disso, seria lógico se esperar que os corticosteróides, os quais induzem a síntese de uma proteína inibitória da fosfolipase A_2 , peptídeo este denominado por uns de macrocortina e por outros de lipomodulina, também fossem capazes de inibir a liberação de tromboxana ou de prostaciclina. Recentemente, entretanto, PUUSTINEN *et alii* (1984) relata

ram que os corticosteróides não interferem nos níveis plasmáticos destas substâncias, sugerindo que a quantidade de peptídeos liberados pelos leucócitos, em humanos, não é suficiente para inibir a atividade da fosfolipase A₂ oriunda das plaquetas ou das células endoteliais.

Ainda com relação aos resultados obtidos na presente pesquisa e relativos à fase exsudativo-vascular da resposta inflamatória, deve-se destacar que, de uma forma global, parece ter ocorrido uma supressão maior dos fenômenos inflamatórios iniciais quando os animais foram tratados com duas doses de 0,025 mg/kg de betametasona, administradas 1 hora antes e 4 horas após o traumatismo cirúrgico, quando comparada com aquela supressão observada nos tecidos de ratos do outro grupo medicamentoso (tratados com uma única dose pós-operatória de 0,1 mg/kg). Sabendo-se que a preparação corticóide utilizada neste último grupo compõe-se de uma associação de um éster pouco solúvel (acetato de betametasona) com outro éster altamente solúvel (o fosfato dissódico de betametasona), em partes iguais, deduz-se que metade da dose total foi absorvida 30 a 60 minutos após a aplicação intramuscular, o que corresponde exatamente à dose total (0,05 mg/kg) utilizada no outro grupo.

Seguindo-se este raciocínio, poder-se-ia atribuir o resultado em questão não à dose empregada, mas sim aos momentos de administração do corticosteróide. Em outras palavras, se obtivermos níveis plasmáticos adequados da betametasona durante o ato cirúrgico, estaremos prevenindo uma liberação exagerada da enzima fosfolipase A₂ pelas células injuriadas e, conseqüentemente, de seus metabólitos pró-inflamatórios. Ao

mesmo tempo, estaríamos atenuando a leucodiapedese, a liberação de enzimas lisossomais e não-lisossomais e com isso, evitando uma destruição tecidual ainda maior no sítio inflamatório. Acrescente-se ainda que, se a meia-vida plasmática da betametasona está em torno de 4 a 5 horas (CLAMAN, 1983), repetindo-se a dose de 0,025 mg/kg neste tempo, estaremos mantendo os picos plasmáticos do corticóide e, conseqüentemente, promovendo os mesmos efeitos antiinflamatórios nesta fase destrutiva que caracteriza a resposta inicial da inflamação.

Finalmente, entende-se não haver necessidade de manutenção de níveis plasmáticos elevados do corticosteróide exógeno por vários dias, que ocorre quando lançamos mão das preparações de depósito por via intramuscular, pois este esquema terapêutico, apesar de constituir-se numa dose única, segundo HOOLEY & HOHL (1974), WILLIAMSON (1980) e CLAMAN (1983), provocam alterações reversíveis, porém mais prolongadas, na homeostasia do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

2. FASE PROLIFERATIVA

A análise dos tecidos obtidos dos animais que não receberam tratamento corticosteróide (grupo 1), aos 7, 14 e 21 dias pós-injúria, permitiu confirmar uma vez mais alguns aspectos do processo de reparação. Segundo CHVAPIL (1967), podemos distinguir 4 etapas durante o curso da inflamação fibroprodutiva: a fase de mobilização celular; a fase de proliferação da substância fundamental; a fase de síntese de colágeno e a fase final de organização.

No modelo de estudo da presente pesquisa, aos 7 dias de evolução do tecido, as três primeiras fases descritas por CHVAPIL (1967) já se encontravam plenamente estabelecidas. Através da histometria, foram computados, em média, 4,27 fibroblastos por campo estudado, que caracteriza a grande mobilização e proliferação destas células, primordiais no processo. Paralelamente, a presença de colágeno e a intensa neoformação vascular demonstra a grande atividade metabólica ocorrida neste tempo.

De acordo com ROSS (1968), os passos iniciais na formação de colágeno ocorrem, intracelularmente, nos ribossomos do retículo endoplasmático rugoso dos fibroblastos secretores. O material aí produzido é então transferido para as vesículas do aparelho de Golgi, ou então diretamente para o espaço extracelular. Moléculas precursoras de colágeno (protocolágeno) são lançadas pelas células para o exterior, onde se tornam visíveis pela polimerização que ocorre, ao que tudo indica, do lado externo da membrana celular, mas bem junto a ela. As moléculas de protocolágeno extracelulares tornam-se então agregadas tanto lateral quanto longitudinalmente, e formam fibrilas de colágeno, que por sua vez unem-se em fibras, que podem ser visualizadas ao microscópio ótico.

Segundo o mesmo autor, os fibroblastos também são responsáveis pela síntese de mucopolissacarídeos ácidos (glicosaminoglicanas), indispensáveis à agregação de colágeno para formar fibras e feixes, agindo como uma substância "cimentante", que une as fibrilas entre si. Por esta razão, é lógico que de nada adiantaria a formação de fibrilas colágenas se não houvesse o "cimento" que as agregam.

O acúmulo de mucopolissacarídeos ácidos inicia-se 12 a 24 horas após a injúria, atingindo uma quantidade máxima do 3º ao 6º dia, acompanhando a proliferação fibroblástica, que os produzem (CHVAPIL, 1967). De acordo com BENTLEY (1967), VIZIOLI (1975) e ANDRADE (1980), o conteúdo de glicosaminoglicanas livre no tecido, ou seja, não ligado ao colágeno, permanece alto até os 15 dias após o início do processo, depois do que esta quantidade começa a decrescer. Isto significa que após este tempo, os mucopolissacarídeos ácidos disponíveis no tecido se ligam totalmente às fibras, produzindo a maturação final do tecido.

Apesar destes parâmetros não terem sido avaliados na presente pesquisa, esta cronologia evolutiva parece assim ter ocorrido naqueles tecidos obtidos dos animais do grupo controle. As fotos de nº 1 das figuras 6, 7, 8, 9 e 10, ilustram uma evolução clássica do processo de reparação tecidual. Percebe-se, aos 14 dias de evolução do tecido, uma diminuição da população fibroblástica, que deixa espaço para ser preenchido por espessos feixes de fibras colágenas. Uma outra prova do que foi dito refere-se ao tecido epitelial presente que recobre totalmente a ferida. Já aos 21 dias de estudo, o tecido reparativo encontra-se totalmente amadurecido, com o colágeno remodelado e bem direcionado. A presença de anexos como as glândulas e os folículos pilosos até dificulta a diferenciação para com o tecido circunvizinho à área de lesão, ao microscópio ótico (foto 1 da figura 10).

Em resumo, estes achados já eram esperados e estão de acordo com o de inúmeros pesquisadores, destacando-se CHVAPIL (1967); BENTLEY (1967); MADDEN & PEACOCK JR. (1968);

ROSS (1968); Mc MINN & PRITCHARD (1969); VIZIOLI (1973); COHEN, LEWIS & RESNIK (1975); DELAUNAY & BAZIN (1975); VIZIOLI (1975); ANDRADE (1980); JUNQUEIRA (1983), entre outros.

Com relação aos tecidos obtidos dos animais tratados com a betametasona (grupos experimentais 2 e 3), os exames histológicos e histométricos demonstraram claramente que esta droga, nos esquemas terapêuticos preconizados neste trabalho, retardam a evolução do processo de reparação tecidual. Esta afirmação pode ser fundamentada principalmente pela diminuição do número de fibroblastos secretores nos diversos tempos de estudo, quando comparado com aquele computado nos tecidos dos animais injetados com salina. Este resultado está de acordo com as opiniões de CHVAPIL (1967); ABREU (1970); BAXTER & FORSHAM (1972); DUJOVNE & AZARNOFF (1973); GREGORI (1975); JUNQUEIRA (1983) e OLIVEIRA (1983), que afirmam que os corticosteróides promovem um decréscimo do número de fibroblastos teciduais. CHVAPIL (1967) também sugere que este efeito inibidor pode ser devido aos corticosteróides induzirem alterações no processo de mitose. Segundo este autor, a diminuição da população fibroblástica redonda na deficiência de síntese de mucopolissacarídeos ácidos e que este fenômeno tem lugar, especialmente, durante a fase fibroprodutiva do processo inflamatório. ANDRADE (1980), através de um método histofotométrico, confirmou tal assertiva, demonstrando que a dexametasona na dose diária de 0,1 mg/kg, em tecido de granulação de ratos, inibiu a síntese de mucopolissacarídeos ácidos e, conseqüentemente, a agregação de colágeno.

Analisando-se o resultado histométrico obtido neste trabalho, pode-se reforçar este conceito, pois os valo

res médios do número de fibroblastos computados das lâminas histológicas obtidas de animais tratados com a betametasona foram menores aos 7 e maiores aos 14 e 21 dias de estudo, que aqueles obtidos dos animais do grupo controle. Feita a análise de variância e submetidos posteriormente ao teste de Tukey, estes valores demonstraram ser estatisticamente significantes dentro dos três tempos de estudo relativos à fase proliferativa da inflamação (7, 14 e 21 dias pós-operatórios).

Acrescente-se ainda a observação de que o grupo de ratos tratados com a preparação de depósito de betametasona (dose única pós-operatória de 0,1 mg/kg) apresentou uma inibição maior da população fibroblástica e em decorrência, da evolução da reparação, quando comparado àquele grupo de animais injetados com a betametasona em duas doses idênticas de 0,025 mg/kg, dadas 1 hora antes e 4 horas após a injúria. A explicação para tal achado pode ser devida à manutenção de níveis plasmáticos do corticóide por até 10 dias, que a preparação de depósito proporciona, diferindo da preparação injetável comum, cuja meia-vida plasmática da betametasona não ultrapassa, segundo CLAMAN (1983), 5 horas.

Torna-se um pouco difícil confrontar os resultados desta pesquisa com aqueles encontrados na literatura. Se por um lado NATHANSON & SEIFERT (1964); SMALES (1978); ABREU (1980) e SKJELBRED & LOKKEN (1982), são unânimes em afirmar que os corticóides não interferem na evolução do processo de reparação tecidual, em humanos, baseados em observações clínicas e no caso de SMALES (1978), até mesmo histológicas, outros pesquisadores são de opinião totalmente contrária, relatando sob várias formas o conceito de que os corticosteróides provo

cam um efeito enormemente negativo nestes processos (CHVAPIL, 1967; BAXTER & FORSHAM, 1972; GOODMAN & GILMAN, 1973; SCHERRER & WHITEHOUSE, 1974; COHEN, LEWIS & RESNIK, 1975; HEUGHAM & HUNT, 1975; LECHAT, 1975; SCHILLING, 1976; BAHN, 1982 e OLIVEIRA, 1983).

GRELLET & SOUSSALINE (1975) sugeriram que os efeitos dos glucocorticóides sobre a cicatrização cutânea são discutíveis. Admitem que a aplicação local destas drogas retarda a reparação, mas que por via sistêmica não teria um efeito clinicamente considerável. Segundo BOC & PETERSON (1981), 6 mg de dexametasona sódica ou equivalente, dose esta também utilizada por ABREU (1980) com a betametasona e aproximadamente igual à empregada nos animais do grupo 2 desta pesquisa (0,1 mg/kg), constituem-se numa dose ideal, pois os efeitos antiinflamatórios são duradouros, causando efeitos mínimos na cura de feridas.

Resta saber se realmente a inibição da reparação, provocada pela betametasona, nas doses estudadas, ou similares, mesmo sendo discreta, é clinicamente desprezível ou significativa. Sugere-se no futuro testar, em humanos, este novo esquema terapêutico proposto neste trabalho, assim como outras posologias distintas desta, na tentativa de se obter um controle adequado dos eventos inflamatórios na fase inicial e, ao mesmo tempo, não interferir significativamente nos processos teciduais de cura.

Finalmente, poder-se-ia pensar, pelas observações feitas aos 14 dias de evolução dos tecidos tratados com a betametasona, que este corticosteróide também teria um efeito inibidor direto no tecido epitelial que recobre o local da

lesão, mas acredita-se ser lógico concordar com o conceito de BAXTER & FORSHAM (1972) de que a epitelialização não é diretamente afetada pelos glucocorticóides, mas sim o tecido de granulação que lhe serve de arcabouço.

Todavia, segundo MODOLIN & BEVILACQUA (1985), o processo de epitelialização da pele é controlado por um complexo glicoprotéico denominado chalona. A chalona é produzida pelas próprias células epiteliais e sua atividade é interdependente, numa relação recíproca e inversa, com os hormônios da supra-renal. Ainda de acordo com estes autores, às custas de minuciosos estudos histoquímicos, extrapolou-se que a atividade mitótica epitelial, na cicatrização de feridas cutâneas, é estimulada pela chalona cuja atuação é mais evidente em condições de baixos níveis de glucocorticóides.

CAPÍTULO 7

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

Em vista dos resultados obtidos e dentro das condições em que foi realizada a presente pesquisa, conclui-se que:

1. A betametasona demonstrou ser uma droga eficaz na atenuação dos eventos da fase exsudativo-vascular da inflamação, em ratos, principalmente quando empregada na dose de 0,025 mg/kg, por via intraperitoneal, administrada 1 hora antes e repetida 4 horas após a intervenção cirúrgica.

2. Os tecidos dos animais submetidos à ação da betametasona, em ambos os esquemas terapêuticos testados, tiveram sua reparação retardada quando comparada àquela observada nos tecidos obtidos de ratos sob condições normais.

3. O retardo do processo de reparação tecidual foi mais marcante quando a betametasona era empregada, através de uma preparação de depósito, por via intramuscular, na dose única pós-operatória de 0,1 mg/kg.

4. Assim sendo, o esquema terapêutico original proposto neste trabalho para a betametasona, ou seja, o emprego de 2 doses de 0,025 mg/kg, a primeira pré-operatória e a outra pós-operatória, seria o de eleição, quando se pre-

tende um controle adequado dos fenômenos que caracterizam a fase exsudativo-vascular da inflamação e uma interferência, a menor possível, na fase proliferativa do mesmo processo.

CAPÍTULO 8

RESUMO

RESUMO

O presente trabalho teve como finalidade a avaliação experimental, em ratos, dos efeitos antiinflamatórios da betametasona, quando empregada em posologias e preparações distintas.

Os resultados obtidos demonstraram que, quando este corticosteróide sintético foi administrado na dose única de 0,1 mg/kg, no pós-operatório imediato, sob a forma de preparação de depósito, observou-se uma atenuação dos fenômenos que caracterizam a resposta inicial do processo inflamatório. O mesmo também foi observado quando a betametasona foi utilizada sob um novo esquema terapêutico, na dose total de 0,05 mg/kg, dividida em duas doses de 0,025 mg/kg, com uma preparação injetável convencional, 1 hora antes e 4 horas após o ato operatório. Por outro lado, os tecidos dos animais submetidos a corticosteroideterapia, em ambos os esquemas estudados, tiveram sua reparação retardada quando comparada àquela observada nos tecidos obtidos de animais sob condições normais. Entretanto, a inibição do processo de reparação parece ter sido menos marcante nos tecidos tratados com a preparação convencional da betametasona, se comparada com aquela provocada pelo tratamento com a preparação de depósito do mesmo corticosteróide.

A partir desses resultados, também foi possível concluir que o esquema terapêutico original proposto com a betametasona seria o mais indicado, quando se pretende uma eficácia antiinflamatória equilibrada e, ao mesmo tempo, uma interferência, a menor possível, na evolução dos processos de reparação.

CAPÍTULO 9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, E.M. Reparação alveolar em cães: estudo clínico, radiográfico e histológico em condições normais e sob ação hormonal. Piracicaba, 1970. p. 66-7. |Tese (Doutoramento) - F.O.P.|.
- _____. Influência da betametasona (9-a fluoro 16 B metil-prednisolona) no pós-operatório de pacientes submetidos à cirurgia de dentes inclusos. Piracicaba, 1981. 84p. |Tese (Livre Docência) - F.O.P.|.
- ANDRADE, E.D. Estudo histológico e histofotométrico do tecido de granulação de ratos em condições normais e sob ação de drogas anti-inflamatórias. Piracicaba, 1980. 48p. |Tese (Mestrado) - F.O.P.|.
- ARRUDA, W.C. Prostaglandinas e citoproteção. F. Med. (BR), 89(1): 29-31, 1984.
- BAHN, S.L. Glucocorticosteroids in dentistry. J. Am. dent. Ass., 105: 476-81, 1982.
- BAXTER, J.D. & FORSHAM, P.H. Tissue effects of glucocorticoids. Am. J. Med., 53: 573-85, 1972.
- BAZERQUE, P. Farmacologia odontológica. 2.ed. Buenos Aires, Mundi, 1978. p.365-89.

- BELLANTI, J.A. Immunology II. Philadelphia, Saunders, 1978. p.746-57.
- BELLOMI, C. Cortisonicoterapia sintonizzata con il bioritmo circadiano dell'increzione corticossurenalica. Rass. trimest. Odont., 49: 251-7, 1958.
- BENTLEY, J.P. Rate of chondroitin sulphate formation in wound healing. Ann. Surg., 165: 186-91, 1967.
- BERGSTROM, S.; DANIELSON, H.; SAMUELSON, B. The enzymatic formation of prostaglandins E₂ from arachidonic acid. Biochem. Biophys. Acta, 90: 204, 1964.
- BLACKWELL, G.J.; CARNUCCIO, R.; DIROSA, M.; FLOWER, R.J.; PARENTE, L.; PERSICO, P. Macrocortin: a polypeptide causing the anti-phospholipase effect of glucocorticoids. Nature (London), 287: 147-9, 1980.
- BLECHMAN, H. Is inflammation a defense mechanism? a debate. J. Endod., 3(10): 382-93, 1977.
- BOC, T. & PETERSON, L. Revascularization after posterior mandibular alveolar osteotomy. J. Oral Surg., 39(3) : 181, 1981.
- BODVALL, B. & RAIS, O. Effects of infiltration anaesthesia on the healing of incisions in traumatized and non-traumatized tissues. Acta chir. scand., 123: 83-91, 1962.

- BRUNE, K. Prostaglandins and the mode of action of antipyretic analgesic drugs. Am. J. Med., 14: 19-23, 1983.
- CHVAPIL, M. Physiology of connective tissue. London, Butterworths, 1967. p.206-58, 302-4.
- CLAMAN, H.N. Glucocorticosteroids I: anti-inflammatory mechanisms. Hosp. Pract., 18(7): 123-6, 131-4, 1983.
- _____. Glucocorticosteroids II: the clinical responses. Hosp. Pract., 18(7): 143-6, 149-51, 1983.
- COHEN, B.H.; LEWIS, L.A.; RESNIK, S.S. Wound healing: a brief review. Int. J. Derm., 14: 722-6, 1975.
- DELAUNAY, A. & BAZIN, S. Réparation du tissu conjonctif. Arch. Ophthal. (Paris), 35(2): 115-26, 1975.
- DOUGLAS, B.L. & KRESBERG, H. Cortisone in dentistry. Oral Surg., 9: 978-84, 1956.
- DUJOVNE, C.A. & AZARNOFF, D.L. Clinical complications of corticosteroid therapy. Med. Clin. N. Am., 57: 1331 - 41, 1973.
- DURIGHETTO JR., A.F.; MATHEUS, G.; MARTINELLI, C. Efeitos da corrente elétrica contínua de baixa intensidade sobre o processo de reparo de feridas cutâneas de ratos. Estudo morfológico. Revta Ass. paul. Cirurg. dent., 32: 316-22, 1978.

- FLOWER, R.J. & VANE, J.R. Commentary: inhibition of prostaglandin biosynthesis. Biochem. Pharm., 23: 1439-50, 1974.
- GOLDSTEIN, I.M. Effects of steroids on lysosomes. Transplant. Proc., 7: 21-4, 1975.
- GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 4.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973. p. 314-6, 920, 1491-514.
- GREENBERG, S. & PALMER, G.C. Biochemical basis of analgesia: metabolism, storage, regulation and action. Dent. Clins. N. Am., 22(1): 31-46, 1978.
- GREENFIELD, W. & CARUSO, W.A. Systemic use of steroids following office oral surgery. N.Y. St. dent. J., 42: 482 - 5, 1976.
- GREGORI, C. Fundamentos e normas para a utilização de drogas anti-inflamatórias no âmbito da cirurgia odontológica. Ars Curandi Odont., 1(6): 33-6, 1975.
- GRELLET, M. & SOUSSALINE, M. Action des corticostéroïdes sur la cicatrisation cutanée. Utilisation en chirurgie maxillo-faciale. Revue Stomat., 76(5): 379-83, 1975.
- GUPTA, C.; KATSUMATA, M.; GOLDMAN, A.S.; HEROLD, R.; PIDDINGTON, R. Glucocorticoid-induced phospholipase A₂-inhibitory proteins mediate glucocorticoid teratogenicity *in vitro*.

Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A., 81: 1140-3, 1984.

HENCH, P.S.; KENDALL, E.C.; SLOCUMB, C.H.; POLLEY, H.F. Effect of a hormone of the adrenal cortex (17 hydroxy-11- dehydrocorticosterone: compound E) and of pituitary adreno corticotropic hormone on rheumatoid arthritis. Preliminary report. Proc. Staff Meet. Mayo Clin., 24: 181, 1949.

HEUGHAN, C. & HUNT, T.K. Some aspects of wound healing research: a review. Can. J. Surg., 18: 118-25, 1975.

HIRATA, F.; SCHIFFMANN, E.; VENKATASUBRAMANIAN, K.; SALOMON, D.; AXELROD, J. A phospholipase A₂ inhibitory protein in rabbit neutrophils induced by glucocorticoids. Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A., 77: 2533, 1980.

HOOLEY, J.R. & FRANCIS, F.H. Betamethasone in traumatic oral surgery. J. Oral Surg., 27: 398-403, 1969.

_____ & HOHL, T.H. Use of steroids in the prevention of some complications after traumatic oral surgery. J. Oral Surg., 32: 864-6, 1974.

JOHNSON, L.K.; LONGENECKER, J.P.; BAXTER, J.D.; DALLMAN, M. F.; WIDMAIER, E.P.; EBERHARDT, N.L. Glucocorticoid action: a mechanism involving nuclear and non-nuclear pathways. Br. J. Derm., 107(suppl. 23): 6-23, 1982.

JUNQUEIRA, M.E.R. Estudo histológico dos efeitos de drogas anti-inflamatórias (betametasona, papaína e piroxicam) sobre a evolução do tecido de granulação induzido em ratos. Piracicaba, 1983. 67p. [Tese (Mestrado) - F.O.P.].

KALKWARF, M.S.; HINRICHS, J.E.; SHAW, D.H. Management of the dental patient receiving corticosteroid medications. Oral Surg., 54(4): 396-400, 1982.

KEHRL, J.H. & FAUCI, A.S. The clinical use of glucocorticoids. Ann. Allergy, 50(1): 2-10, 1983.

LANDS, W.E.M. & SAMUELSON, B. Phospholipid precursors of prostaglandins. Biochem. Biophys. Acta, 164: 426, 1968.

LECHAT, P. Chimie et pharmacologie des glucocorticostéroïdes. Revue Stomat. (Paris), 76(5): 353-61, 1975.

MADDEN, J.W. & PEACOCK JR., E.E. Studies on the biology of collagen during wound healing. I. Rate of collagen synthesis and deposition in cutaneous wounds of the rat. Surger-
ry, 64: 288-94, 1968.

MAILLARD, P. Intérêt de la connaissance des prostaglandines pour l'odonto-stomatologie, leur rôle dans l'hémostase primaire et dans l'inflammation. Acta Odonto. Stomatol., 145: 95-120, 1984.

- McMINN, R.M.H. & PRITCHARD, J.J. Tissue repair. London, Academic Press, 1969. p.14-40.
- MESSER, E.J. & KELLER, J.J. The use of intraoral dexamethasone after extraction of mandibular third molars. Oral Surg., 40(5): 594-8, 1975.
- MODOLIN, M. & BEVILACQUA, R.G. Cicatrização das feridas. Síntese das aquisições recentes. Rev. Bras. Clin. Terap., 14(6): 208-13, 1985.
- NASCIMENTO, A.; BARRETO, R.C.; BOZZO, L. Étude histomorphométrique de l'effet de la dilantine sodique sur les tissus gingivaux de rats. J. Biol. Buccale, 11: 119-23, 1983.
- NATHANSON, N.R. & SEIFERT, D.M. Betamethasone in dentistry. Oral Surg., 18(6): 715-24, 1964.
- OLIVEIRA, I.R. Corticosteróides: farmacologia e uso clínico. F. Méd. (BR), 86(3): 129-38, 1983.
- PUUSTINEN, T.; DAHL, M.J.; PEKKA, U.; HAATAJA, M. Glucocorticoids do not decrease thromboxane and prostacyclin levels in human blood. Prostagl. Leukot. Med., 15: 409-10, 1984.
- ROBERT, A. Prostaglandins and the digestive system. In: RAMWELL, P.W. The prostaglandins. 2.ed. New York, Plenum Press, 1977. v.3, cap.8, p.225-66.

ROSS, R. The fibroblast and wound repair. Biol. Rev., 43 : 51-96, 1968.

_____ & WHITE, C. Evaluation of hydrocortisone in prevention of postoperative complications after oral surgery: a preliminary report. J. Oral Surg., 16: 220, 1958.

SANDBERG, N. Time relationship between administration of cortisone and wound healing in rats. Acta Chir. scand., 127: 446-55, 1964.

SCHAYER, R.M. Histamine and autonomous responses of the microcirculation: relationship to glucocorticoid action. Ann. N.Y. Acad. Sci., 116: 891-8, 1964.

SCHERRER, R.A. & WHITEHOUSE, M.W. Antiinflammatory agents: chemistry and pharmacology. New York, Academic Press, 1974. v.2, p.304-24, 369-75.

SCHILLING, J.A. Wound healing. Surg. Clins. N.Am., 56: 859-73, 1976.

SKJELBRED, P. & LOKKEN, P. Reduction of pain and swelling by a corticosteroid injected 3 hours after surgery. Eur. J. Clin. Pharmac., 23: 141-6, 1982.

SMALES, R.J. Effects of systemic cortisone on the healing of tooth sockets in rats. Oral Surg., 45(5): 685-8, 1978.

- SUGIO, K. & TSURUFUJI, S. Mechanism of antiinflammatory action of glucocorticoids: re-evaluation of vascular constriction hypothesis. Br. J. Pharmac., 73: 605-8, 1981.
- THOMAS, G. & WEST, G.B. Prostaglandins, kinin and inflammation in the rat. Br. J. Pharmac., 50: 231-5, 1974.
- VAN DER ZWAN, J.; BOERING, G.; WESSELING, C.; SIBINGA, T.S.; WEELE, L.T. The lower third molar and antiphlogistics. Int. J. Oral Surg., 11: 340-50, 1982.
- VANE, J.R. & FERREIRA, S.H. Handbook of pharmacology. Berlin, Springer-Verlag, 1979. p. 223-54, 348-98, 598-634.
- VEALE, W.L.; COOPER, K.E.; PITTMAN, Q.J. Role of prostaglandins in fever and temperature regulation. In: RANWELL, P. W. The prostaglandins. 2.ed. New York, Plenum Press, 1977. v.3., cap:6, p. 145-67.
- VIZIOLI, M.R. Dynamics of fibrillar components in rat sponge-induced granulation tissue. Acta anat., 85: 368-77, 1973.
- _____. Relação entre fosfomonoesterases e a síntese de colágeno e mucopolissacarídeos ácidos no tecido de granulação. Piracicaba, 1975. 65p. |Tese (Livre Docência) - F.O.P.|.
- WALI, M.A. Influence of corticosteroids on connective tissue. Indian. Jour. Dermatol., 28(2): 69-72, 1983.

WEEKS, J.R. Prostaglandins. Rev. Pharmac., 12: 317-36, 1972.

WILLIAMSON, L.W.; LORSON, E.L.; OSBON, D.B. Hypothalamic-pi
tuitary-adrenal supression after short-term dexamethasone
therapy for oral surgical procedures. J. Oral Surg., 38 :
20-8, 1980.

APÉNDICE

Médias de 10 leituras, do número de fibroblastos, feitas em 3 lâminas histológicas de cada animal, segundo o grupo, aos 7 dias de estudo.

	GRUPO		
	1	2	3
	4,40	1,80	3,30
	4,00	1,40	3,10
	4,20	1,60	2,90
	4,60	1,60	3,30
	4,40	1,40	3,30
	4,20	1,80	3,30
	4,20	1,60	3,00
	4,60	1,80	3,40
	3,80	2,00	3,20
MÉDIA	4,27	1,66	3,20

Médias de 10 leituras, do número de fibroblastos, feitas em 3 lâminas histológicas de cada animal, segundo o grupo, aos 14 dias de estudo.

	GRUPO		
	1	2	3
	1,40	2,90	1,50
	1,20	2,70	1,90
	1,60	2,50	1,70
	1,40	2,50	1,60
	1,40	2,30	1,80
	1,40	2,70	2,00
	1,70	2,60	1,70
	1,30	2,80	1,90
	1,50	2,40	1,50
MÉDIA	1,43	2,60	1,73

Médias de 10 leituras, do número de fibroblastos, feitas em 3 lâminas histológicas de cada animal, segundo o grupo, aos 21 dias de estudo.

	GRUPO		
	1	2	3
	1,00	1,30	1,20
	0,80	1,10	0,80
	0,60	0,90	1,00
	0,80	1,10	1,40
	0,80	1,50	1,20
	0,80	1,30	1,00
	0,70	1,30	1,10
	0,90	1,30	1,30
	0,50	1,30	0,90
MEDIA	0,76	1,23	1,10