

ANA MARIA SOARES DE ARRUDA

AÇÃO DA PAPAINA SOBRE A MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA EM MODELO DE
INFLAMAÇÃO AGUDA EM CAVIDADE PERITONEAL DE CAMUNDONGOS

*Este exemplar
foi doado ao
conformar resolução
CC. P. 6 / 036/83
Pina. 23/08/91
Ercio Teófilo*

Tese apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba
da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do
Título de Mestre em Ciên-
cias, Área de Farmacologia.

PIRACICABA - S. P.

= 1991 =

Ar69a

14595/BC

ANA MARIA SOARES DE ARRUDA

AÇÃO DA PAPAINA SOBRE A MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA EM MODELO DE
INFLAMAÇÃO AGUDA EM CAVIDADE PERITONEAL DE CAMUNDONGOS

Orientador: Prof. Dr. SAMIR TUFIC ARBEX†

*Este exemplar foi doado ao
CCPG, conforme resolução
CCPG 1036/83
Pira. 22/08/91
Samir Tufic Arbex*

Tese apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba
da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do
Título de Mestre em Ciên-
cias, Área de Farmacologia.

PIRACICABA - S. P.

= 1991 =



DEUS

Tu que és Pai

Tu que és Mestre

Tu que és Amor

Continua ao meu lado.

Ao meu pai, JOSÉ MARIA, pelo sonho e esperança que me acompanham até hoje.

Ao VALDIR, meu padrasto, companheiro, que me ensinou a amar as coisas simples.

A minha mãe, MYRIAM, pela dedicação, perseverança e amor em cada passo dado.

As minhas irmãs MARA e SONIA, verdadeiras amigas, sempre rindo e chorando comigo.

Aos meus tios ZUZO e OLGA, pela constante amizade e pelo exemplo de vida.

A minha filha LAURA, luz, riso, amor, razão de viver.

Eu dedico este trabalho.

Ao Dr. SAMIR, cuja convivência me enriqueceu, cujos valores me nortearam, mais que um orientador, foi um amigo.

A minha eterna gratidão.

Ao THALES, pelo interesse, apoio, compreensão e carinho,
e sobretudo pelo exemplo de grande mestre e pesquisador.

Minha homenagem.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. CARLOS ALBERTO VOGT, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas, pelo estímulo oferecido aos que se dedicam à pesquisa.

Ao Prof. Dr. RENATO ROBERTO BIRAL, Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela dedicação e apoio aos professores e alunos.

Ao Prof. Dr. THALES ROCHA DE MATTOS FILHO, Digníssimo Coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo exemplo de dedicação e amizade sempre presentes.

A Profa. Dra. MARIA DE LOURDES G. DA GAMA, Digníssima Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Ciências - Farmacologia, pelo carinho, apoio e interesse constantes.

Ao Prof. Dr. SAMIR TUFIC ARBEX, meu orientador, pelo seu carinho, pela sua compreensão e amizade.

A todos os Professores deste Curso de Pós-Graduação, pelos conhecimentos transmitidos e pelo exemplo de dedicação ao ensino e à pesquisa.

Ao Prof. Dr. LOURENÇO BOZZO, pelo apoio e pela autorização do uso dos microscópios do laboratório de Patologia. É através da grandeza de tais homens que o conhecimento nasce e se transmite.

A Sra. MARIA HELENA VASCONCELLOS PERON, a Srt.a. FABIANA FACCO CASAROTTI e ao Sr. PEDRO DUARTE NOVAES, técnicos da Área de Patologia, pela cordialidade e atenção dispensadas.

A Profa. Dra. SONIA VIEIRA, pela orientação na análise estatística deste trabalho.

Aos colegas deste Curso de Pós-Graduação, e em especial a ADRIANA, DORIS, RUBENS, THOMAZ, DOMINGOS, SELEM E PAULO, pela amizade, companheirismo e pela alegria da convivência com pessoas tão especiais.

A Sra. WALKIRIA CRISTINA CRESPO CHACON e ao Sr. JOSÉ CARLOS GREGÓRIO, técnicos da Área de Farmacologia, pela preciosa colaboração e boa vontade.

Ao Sr. MOISES JOSE MARIA DA SILVA, pelos cuidados para com os animais utilizados na pesquisa.

A Sra. VILMA BIZUTI DOS SANTOS e Sra. MARIA ELISA DOS SANTOS, secretárias deste Curso de Pós-Graduação, pela atenção e eficiência sempre demonstradas.

A Sra. ANA MARIA COSSA DE ARRUDA OLIVEIRA, secretária da Comissão dos Cursos de Pós-Graduação desta Faculdade, pela paciência, orientação segura e eficiência sempre dispensadas.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a UNICAMP, pelo apoio financeiro que permitiu a realização do Curso de Pós-Graduação.

Ao Sr. ALEXANDRE ROCHA ARBEX, do Centro de Processamento de Dados, pela digitação deste trabalho e pela presteza na entrega do mesmo.

Ao Sr. MARCOS ANTONIO RAPETTI, pela digitação dos gráficos e pela boa vontade demonstrada.

As Bibliotecárias JUREMA FERRAZ CARDOSO, IVANY DO CARMO G. GEROLA e SUELI DUARTE O. SOLIANI, pela constante orientação na pesquisa e revisão bibliográfica.

A todos aqueles que direta ou indiretamente me ajudaram na realização deste trabalho, o meu muito obrigada.

SUMÁRIO

I - INTRODUÇÃO	02
II - PROPOSIÇÃO	08
III - MATERIAL E MÉTODO	10
IV - RESULTADOS	17
V - DISCUSSÃO	28
VI - CONCLUSÕES	34
VII - RESUMO	36
VIII - SUMMARY	38
IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
X - ANEXO	46

I - INTRODUÇÃO

I - INTRODUÇÃO

A pesquisa de drogas que aliviam ou eliminam sintomas da reação inflamatória é tão antiga quanto o homem. Durante muitos séculos, a inflamação foi considerada como doença, e é recente a noção de inflamação como um mecanismo normal e desejável do organismo, frente a agentes agressivos. Assim, hoje, o homem ainda busca medicamentos que causem alívio dos sintomas da reação inflamatória, mas de maneira que não interfira de modo definitivo com o curso da reação, e sempre lembrando que deve procurar e atacar o agente causador, e não a manifestação orgânica de combate a este agente.

A reação inflamatória é, pois, uma mobilização de vários sistemas do organismo que tentam eliminar o agente lesivo e recuperar o tecido agredido. A inflamação poderia então ser dividida em duas grandes fases: a fase reativa e a fase de recuperação do tecido.

A primeira fase apresenta fenômenos vasculares e celulares importantes e tem por objetivo a eliminação do agente agressor (ou flogógeno). Nesta fase, observa-se a liberação de substâncias vasoativas, extravasamento de líquido (edema), aumento de fluxo sanguíneo no local e a chegada de células mono e polimorfonucleares.

As células são chamadas ao foco inflamatório através de liberação de substâncias quimiotáticas. Um vez lá, elas liberam substâncias que tornam o meio desfavorável à proliferação micro-

blana, e tentam fagocitar o agente flogógeno. A fagocitose é uma etapa muito importante na evolução da reação inflamatória, pois em grande parte é dela que vai depender a evolução da etapa seguinte. Se o agente agressor for facilmente digerido e destruído, a cura virá rápida, com a limpeza e a regeneração ou cicatrização do tecido. Se o agente agressor for de difícil digestão ou não pode ser destruído, a inflamação tornar-se-á crônica e persistirá enquanto o agente flogógeno estiver no local.

A segunda fase também tem fenômenos vasculares e celulares importantes, responsáveis pela cura do tecido agredido. Esta cura faz-se através da regeneração, quando o local lesado é preenchido por células do próprio tecido, ou através da cicatrização, quando há deposição de tecido conjuntivo no local da inflamação.

A drenagem do exudato inflamatório faz-se através de vasos sanguíneos e linfáticos, mas quando o exudato apresenta-se muito espesso a limpeza do local torna-se difícil. Nestes casos, o uso de enzimas proteolíticas pode ser muito útil, desde que o processo inflamatório seja asséptico.

A papaína é uma enzima extraída do látex da planta Cari-
ca papaya (NOVEY et alii)¹³ (mamão) e a sua ação antiinflamatória está baseada no fato desta enzima ativar o plasminogênio, transformando-o na protease plasmina, que lisa a fibrina e fibrinogênio encontrados no local inflamado. Isto facilita a drenagem e consequentemente a remoção do exudato inflamatório, agilizando a resolução do processo. SASAKI et al.¹² relataram a ação fibrinolítica da papaína e sua ação inibitória sobre a formação de mucopolissacarídeo em reações inflamatórias e Tumor de Erlich em camun-

dongos.

Alguns autores (OSUNA et alii¹⁶; WALTERS et alii²⁰; WALTERS et alii³⁰), relataram a ação da papaína em receptores de membrana de linfócitos e macrófagos. Estas células, em contacto com papaína, "in vitro", perdem alguns receptores de membrana, e esta perda pode ser total dependendo do tempo de incubação (exposição).

VALERI et alii²⁵ relataram a reatividade da papaína com a protease plasmática antitrombina III, "in vitro". A antitrombina III, reagindo com a papaína, inativa-a, e fica inábil para se ligar à trombina.

Os aspectos químicos e bioquímicos da papaína, conquanto enzima proteolítica, foram bastante estudados. Sua estrutura (BROCKLEHURST et al)⁵, seu modo de ação proteolítica (ANGELIDES et al⁴; BROCKLEHURST et al⁵; FRANKFATER et al⁹; SMOLARSKY et alii²³), velocidade de reação (SMOLARSKY)²³, inativação (SLUYTERMAN et al)²², seu sítio de ação e especificidade (HANSCH)¹⁰ já foram bem definidos por muitos autores.

Suas propriedades enzimáticas têm aplicação na indústria farmacêutica e de alimentos, tais como amaciante de carne, clareador de cerveja e de lentes de contacto embaçadas, desaderente de feridas e como aditivo em laxantes, pós dentais, tabletes digestivos e loção para pele (NOVEY et alii)¹³.

O latex da papaia (mamão) é conhecido pela sua ação emética quando usado internamente. Em altas doses pode provocar aborto (DEVI et al⁷; SINGH et al²¹).

A papaína pode provocar efeitos teratogênicos, além de

hemorragias de pele, edema e retardo de crescimento no feto, quando administrada em ratas grávidas (DEVI et al)⁷.

Casos de reações alérgicas à papaina, afetando principalmente as vias respiratórias têm sido relatados (FLINDT)⁸. Além disso, indivíduos alérgicos a outras enzimas (bromelina) podem apresentar reação cruzada à papaina e vice e versa (BAUR)^{2,3}. A papaina nestes casos pode provocar enfizema, e isto já foi bastante investigado e estabelecido experimentalmente por diversos autores (BRADBROOK et alii⁴; CHYCZEWSKA et alii⁶; MARTIN et alii¹²; SANDERSON et alii¹⁸).

Existe sempre a pergunta a respeito da absorção da papaina e de outros antiinflamatórios enzimáticos pelo trato gastrointestinal. Vários autores relataram evidências de que enzimas são efetivamente absorvidas pela mucosa intestinal (BRADBROOK et al)⁴. TAUSSIG et al²⁴ trabalhando com bromelina radioativa, detectaram esta enzima no sangue após administração duodenal.

A papaina tem sido utilizada como antiflogístico, em manifestações inflamatórias, tais como edema, abscessos, etc. Seu uso baseia-se apenas na sua ação fibrinolítica, facilitando a drenagem do exudato inflamatório. Sabe-se que outros antiinflamatórios enzimáticos têm ação mais ampla nos processos flogísticos. Quanto à papaina, com excessão do mecanismo já citado, pouco ou nada foi relatado a cerca do seu modo de ação. Este trabalho não tem a pretensão de esclarecer todas as dúvidas a este respeito, pois o assunto é muito extenso e complexo. O que se tentou fazer foi começar, apenas começar o estudo de alguns aspectos da ação antiinflamatória desta enzima.

A papaina tem ação fibrinolítica (SASAKI et al)¹⁹, retira receptores de membrana de células comprometidas com a reação inflamatória (OSUNA¹⁶; WALTERS²⁰; WATERS³⁰), reage com antitrombina III (VALERI et al)²⁵ inativando-a. O sistema fibrinogénio está interligado com vários outros sistemas, inclusive o das prostaglandinas. É sabido também que a fagocitose depende de receptores de membrana e a quimiotaxia é influenciada pela fagocitose. A antitrombina III é mediador da atividade proteolítica da trombina, que tem atividade sobre o fibrinogénio. Com base nestes fatos, procuramos saber se a administração de papaina poderia modificar a migração celular em inflamação asséptica. O modelo experimental escolhido foi a reação inflamatória aguda causada por injeção de solução de ovalbumina em cavidade peritoneal de camundongo. Esta escolha baseou-se no fato deste modelo ser muito simples, portanto fácil de ser executado, além do fato de seus resultados serem confiáveis.

II - PROPOSIÇÃO

II - PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho consiste em verificar se o anti-inflamatório enzimático vegetal papaina tem alguma influência qualitativa e/ou quantitativa sobre a migração celular em inflamação aguda induzida experimentalmente em cavidade peritoneal de camundongos.

III - MATERIAL E MÉTODO

III - MATERIAL E MÉTODO

III.1 - SELEÇÃO DE ANIMAIS

Neste trabalho foram utilizados 137 camundongos out-bred, Swiss, adultos jovens (60 dias), fêmeas, pesando de 23 a 25 g.

Os animais, cedidos pelo Biotério Central da UNICAMP pesando 20 g, foram mantidos em sala própria, alimentados com ração balanceada e água "ad libitum" pelo tempo necessário ate alcançarem o peso desejado. Durante o tempo que durou o experimento, os animais continuaram no mesmo local, recebendo o mesmo tipo de alimentação.

III.2 - MATERIAL USADO

- mesa cirúrgica para camundongos
- tesoura de tamanho pequeno com ponta romba
- tesoura de tamanho grande com ponta fina
- pinça pequena de "ponta lisa"/pinça dente de rato
- seringas de plástico de 5 ml
- seringas de vidro de 3 ml
- seringas centesimais de 1 ml
- agulhas descartáveis 8 x 10 mm
- agulhas descartáveis 18 x 20 mm
- tubos de ensaio

- câmara de anestesia
- algodão hidrófilo
- sonda oral
- câmara de Neubauer improved
- lâminas para microscopia
- laminulas
- tubos capilares

Drogas utilizadas:

Fosfato de potássio monobásico M/15

Fosfato de potássio bibásico M/15

Cloreto de sódio

Heparina - Liquepine^R - Roche - Heparina sódica em solução a 5000 UI/0,25 ml

Ácido acético glacial

Violeta de genciana

Eter sulfúrico

Ovalbumina Grau II - Riedel de Haën

Papaina - Tromasin^R - Park Davis comprimidos, Cada comprimido de Tromasin^R contém 20000 U de enzima, o que corresponde a 8 mg de papaina por comprimido

Solução de violeta de genciana em ácido acético 30% (Türk)

PBS (Phosphate buffered saline pH 8,2)

PBS com Heparina a 5 U/ml

III.3 - GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos em 8 grupos, sendo que cada grupo foi constituído de, no mínimo, 10 animais.

A tabela I mostra os grupos experimentais, segundo o tratamento utilizado.

TABELA I

Grupos experimentais de acordo com o respectivo tratamento

GRUPO	T R A T A M E N T O		
	SALINA	PAPAINA	OVOALBUMINA*
P.O.	—	—	—
P1-6h P1-24h	V.O. 5 dias	—	injeção i.p. 6º dia, 1 mg
P2	Injeção i.p. 6º dia	V.O. 5 dias (0,214 mg/kg)	—
P3-6h P3-24h	—	V.O. 5 dias (0,214 mg/kg)	injeção i.p. 6º dia, 1 mg
SP3-6h SP3-24h	—	V.O. 5 dias (1,07 mg/kg)	injeção i.p. 6º dia, 1 mg

Obs.: o volume administrado em injeção intraperitoneal sempre foi de 0,1 ml

III.4 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

III.4.1 - Administração de Drogas

Solução salina e solução de papaina foram administradas aos animais através de sonda oral.

Para a administração da papaina, os animais foram pesados diariamente, de modo que cada animal recebeu a dose exata para seu peso. Para isso foi calculado um Fator de Correção que multiplicado pelo peso do animal dá como resultado o volume a ser administrado.

$Fc \times \text{peso do animal} = \text{volume a ser administrado.}$

A administração de ovalbumina foi feita por via intraperitoneal, injetando-se 0,1 ml de uma solução de ovalbumina a 10 mg/ml em salina.

III.4.2 - Sacrifício dos Animais

Todos os animais foram sacrificados por exanguinação: após anestesia por inalação de éter sulfúrico, o animal foi submetido à secção da veia jugular. Terminada a exanguinação, o animal já morto, foi levado à mesa cirúrgica, onde foi feita a colheita das células peritoneais.

O sacrifício foi feito 6 horas ou 24 horas após a injeção intraperitoneal de ovalbumina ou salina, conforme o indicado, com exceção do grupo F-0. Os tempos 6 h e 24 h foram escolhidos após a execução de uma curva da cinética da migração celular ao peritoneo após injeção de 1 mg de ovalbumina. (vide gráficos A e B no Anexo)

III.4.3 - Colheita das Células Peritoneais

Após o sacrifício, o animal foi fixado em mesa cirúrgica e recebeu, intraperitonealmente, 3 ml de PBS contendo 5 U/ml de heparina. A finalidade da heparina é de impedir a agregação das células. O peritонеo, então foi massageado delicadamente e o exsudato foi retirado com seringa de plástico e agulha 16 x 30 mm. É sabido a facilidade com que macrófagos peritoneais aderem-se ao vidro, e como as células se aglomeram com a formação de espuma; por isso tomou-se o cuidado de se usar sempre seringas de plástico e agulhas de calibre grosso. Desta maneira, de cada animal foi retirado 2 ml de exudato, dos quais 0,9 ml foram depositados em tubo de vidro contendo 0,1 ml de violeta de genciana em ácido acético 30%. Os tubos foram rotulados, fechados e guardados em geladeira até que se fizesse a leitura das células (máximo de 15 dias).

III.4.4 - Leitura das Células Peritoneais

A leitura das células peritoneais foi feita em microscópio óptico Zeiss. Foram feitas: contagem global e contagem diferencial das células.

Contagem Global: foi feita em Câmara de Neubauer improved, reticulado central, com objetiva de 40x.

Contagem Diferencial: foi feita em gotícula entre lâmina e lamínula, com objetiva de 100x (imersão).

Na contagem diferencial, foram identificadas as células: macrófago, células polimorfonucleares, linfócitos e mastócitos. Foram contados, no mínimo, 100 células de cada amostra.

III.5 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foram calculados: média, desvio-padrão, variância e coeficiente de variância.

Para a comparação dos grupos foi aplicado o teste t de Student, estabelecendo desigualdade ou igualdade de resultados, ao nível de significância de 10%.

IV - RESULTADOS

IV - RESULTADOS

IV.1 - APRESENTAÇÃO DOS DADOS

As tabelas dos dados obtidos são apresentadas no Anexo (págs. 46 a 57).

Para a análise estatística foram calculadas a média, desvio-padrão, variância e coeficiente de variância.

A tabela II mostra a média, desvio-padrão, variância e coeficiente de variância dos dados da contagem global das células peritoneais.

TABELA II

Dados estatísticos dos grupos experimentais, obtidos da contagem global das células peritoneais.

GRUPO	$\bar{x}$ ($\times 10^6$ cels)	s	s^2	C. V. (%)
P0	6,85	3,31	10,96	48,32
P1 6h	6,41	3,11	9,67	36,98
P1 24h	6,84	3,82	14,62	55,85
P2	7,50	3,82	14,62	50,93
P3 6h	8,74	5,51	30,42	63,04
P3 24h	8,20	2,09	4,36	25,49
SP3 6h	9,36	4,26	18,16	45,51
SP3 24h	8,79	2,29	5,25	26,05

A tabela III mostra a média, desvio-padrão, variância e coeficiente de variância dos dados da contagem de macrófagos peritoneais.

TABELA III

Dados estatísticos dos grupos experimentais, obtidos da contagem diferencial de macrófagos peritoneais.

GRUPO	$\bar{x}$ ($\times 10^6$)	s	s^2	C.V. (%)
P0	4,71	2,05	4,20	43,52
P1 6h	4,30	2,03	4,13	47,09
P1 24h	4,08	2,54	6,45	62,25
P2	5,26	2,56	6,56	48,67
P3 6h	4,48	2,80	7,85	62,50
P3 24h	4,55	0,98	0,97	21,54
SP3 6h	4,46	2,14	4,59	47,98
SP3 24h	5,31	1,45	2,11	27,31

A tabela IV mostra a média, desvio-padrão, variância e coeficiente de variância dos dados obtidos da contagem de células polimorfonucleadas peritoneais.

TABELA IV

Dados estatísticos dos grupos experimentais, obtidos da contagem diferencial de células polimorfonucleadas peritoneais.

GRUPO	$\bar{x}$ ($\times 10^6$)	s	s^2	C.V. (%)
P0	0,11	0,15	0,02	136,36
P1 6h	2,43	1,04	1,08	42,80
P1 24h	1,18	0,99	0,98	83,90
P2	0,13	0,17	0,03	130,77
P3 6h	2,57	2,00	3,99	77,82
P3 24h	1,12	0,51	0,26	45,54
SP3 6h	2,91	1,74	1,32	59,79
SP3 24h	1,45	1,03	1,07	71,03

A tabela V mostra a média, desvio-padrão, variância e coeficiente de variância dos dados obtidos da contagem de linfócitos peritoneais.

TABELA V

Dados estatísticos dos grupos experimentais, obtidos da contagem diferencial de linfócitos peritoneais.

GRUPO	$\bar{x}$ ($\times 10^6$)	s	s^2	C. V. (%)
P0	1,90	1,39	1,94	73,16
P1 6h	1,52	0,81	0,66	53,29
P1 24h	1,50	0,69	0,48	46,00
P2	1,97	1,42	2,01	72,08
P3 6h	1,60	1,21	1,46	75,63
P3 24h	2,39	0,96	0,92	40,17
SP3 6h	1,85	1,31	1,73	70,81
SP3 24h	1,96	0,58	0,34	29,59

A tabela VI mostra a média, desvio-padrão, variância e coeficiente de variância dos dados obtidos da contagem de mastócitos peritoneais.

TABELA VI

Dados estatísticos dos grupos experimentais, obtidos da contagem diferencial de mastócitos peritoneais.

GRUPO	$\bar{x}$ ($\times 10^6$)	s	s^2	C. V. (%)
P0	0,13	0,15	0,02	115,38
P1 6h	0,14	0,13	0,02	92,86
P1 24h	0,31	0,68	0,47	219,35
P2	0,14	0,12	0,01	85,71
P3 6h	0,13	0,10	0,01	76,92
P3 24h	0,15	0,14	0,02	93,33
SP3 6h	0,14	0,13	0,02	92,86
SP3 24h	0,07	0,07	0,01	100,00

IV.2 - COMPARAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

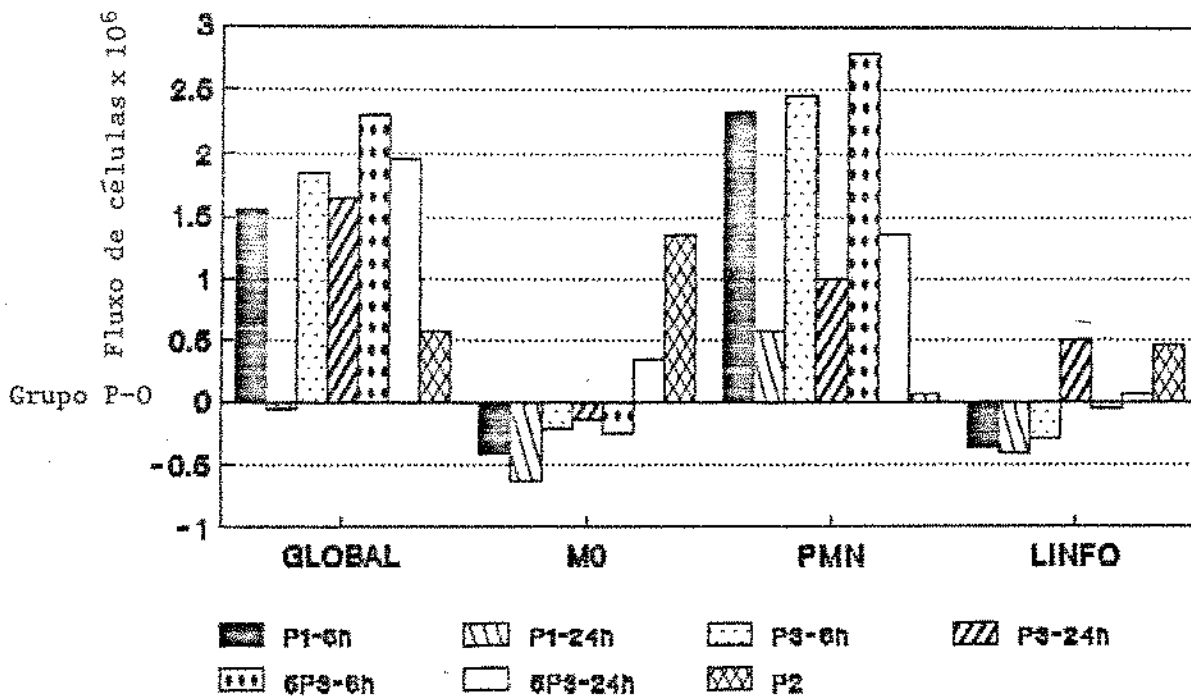
IV.2.1 - Em Relação ao Grupo P0

Se compararmos os dados dos grupos experimentais em relação ao grupo que não recebeu nenhum tratamento (gráfico I), é fácil verificar o afluxo de células à cavidade peritoneal após a injeção intraperitoneal de ovalbumina, afluxo este de células polimorfonucleadas. Este aumento no número de células do peritônio após a injeção de um agente flogógeno é esperado.

É útil notar também que o grupo P2 comportou-se de maneira semelhante ao grupo zero, não apresentando diferenças significantes no n° de células.

GRÁFICO I

Migração celular à cavidade peritoneal de camundongos de diversos grupos experimentais quando comparados ao Grupo P-0



IV.2.2 - Em Relação ao Grupo P1

O gráfico II mostra que houve um afluxo maior de células polimorfonucleares no grupo 5P3-6h em comparação com o grupo P1-6h. Os demais grupos comportaram-se de maneira semelhante.

Em relação ao grupo P1-24h, o gráfico mostra um aumento no número de células mononucleares no grupo 5P3 24h, mas este aumento não foi estatisticamente significativo (Gráfico II.a).

O gráfico II.a-mostra a migração das células peritoneais nos grupos experimentais em relação ao grupo P1-24h.

GRÁFICO II

Migração celular à cavidade peritoneal de camundongos dos grupos experimentais P3-6h e 5P3-6h, quando comparados ao Grupo P1-6h.

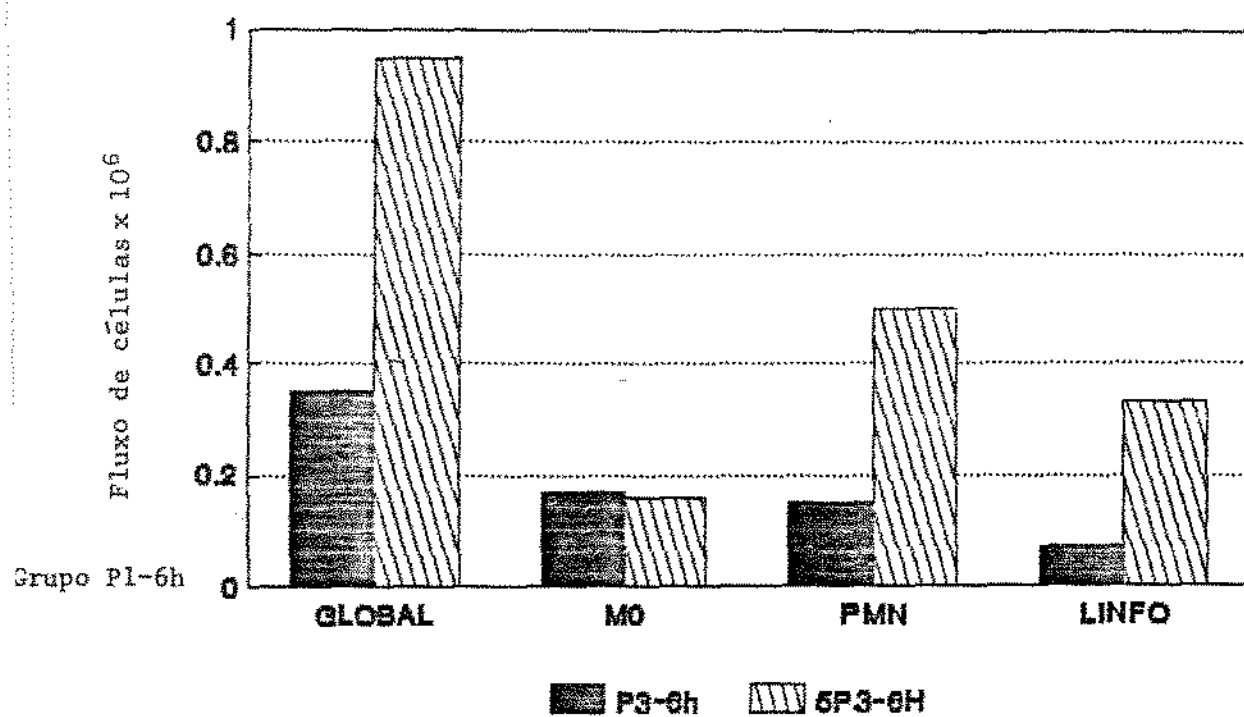
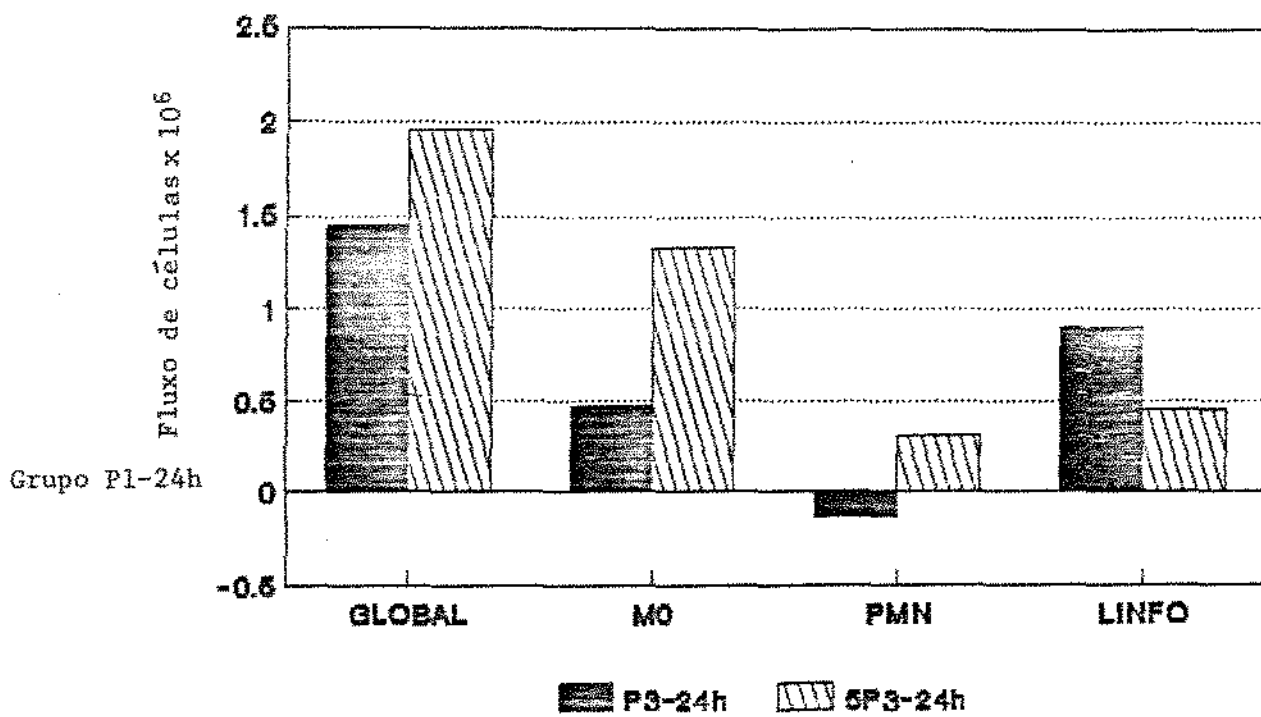


GRÁFICO IIa

Migração celular à cavidade peritoneal de camundongos dos grupos experimentais P3-24h e 5P3-24h, quando comparados ao Grupo P1-24h.



IV.3 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

A comparação dos dados obtidos dos grupos foi feita através da aplicação do Teste T de Student para se estabelecer a igualdade ou desigualdade dos resultados. O nível de significância adotado foi de 10%.

A tabela VII mostra o valor de t para os grupos quando comparados segundo a migração celular à cavidade peritoneal.

Tabela VII

Valores de t para os grupos em comparação, ao nível de significância de 10%.

GRUPOS EM COMPARAÇÃO	V A L O R E S D E t			
	GLOBAL	MACRÓFAGOS	PMN	LINFÓCITOS
zero ↔ P1-6h	1,9410	0,7995	11,0048	1,4034
zero ↔ P1-24h	0,0076	0,7600	3,0508	0,7874
zero ↔ P2	0,6167	0,8202	0,4367	0,1646
P1-6h ↔ P3-6h	0,2415	0,2560	0,2869	0,2745
P1-6h ↔ SP3-6h	0,8830	0,1190	3,0416	0,9747
P1-24h ↔ P3-24h	0,9036	0,4945	0,1557	2,1998
P1-24h ↔ SP3-24h	1,3445	1,2951	0,5607	1,5308

IV.4 - CONCLUSÕES DA ANÁLISE ESTATÍSTICA

IV.4.1 - Em relação ao Grupo P0

O grupo P1-6h, que recebeu injeção intraperitoneal de ovoalbumina, apresentou a contagem de polimorfonucleares significativamente maior que a contagem do grupo zero, que não recebeu nenhum tratamento.

O grupo P1-24h mostrou-se estatisticamente igual ao grupo zero.

O grupo P2 mostrou-se estatisticamente idêntico ao grupo zero.

IV.4.2 - Em relação ao Grupo P1

O grupo SP3-6h apresentou um número de células polimorfonucleares maior que o grupo P1-6h, estatisticamente significante. Já os grupos P3-6h, P3-24h e SP3-24h comportaram-se de modo igual aos grupos P1-6h, e P1-24h, respectivamente, com excessão da contagem de linfócitos do grupo P3-24h que mostrou-se diferente do grupo P1-24h.

V - DISCUSSÃO

V - DISCUSSÃO

O modelo experimental utilizado caracteriza-se por um acúmulo de células polimorfonucleares (PMN) na cavidade peritoneal durante as primeiras 8 horas. O comportamento dos macrófagos é diferente. Estas células diminuem de número nas primeiras horas após o estímulo flogógeno para depois voltarem ao normal. Os linfócitos não se alteram neste modelo experimental (vide gráficos A e B no anexo). Geralmente, todas as células peritoneais voltam ao seu número normal após 24 horas.

Neste experimento, quando os animais foram tratados com papaina, verificou-se um aumento significativo no afluxo de PMN à cavidade peritoneal, em relação aos animais não tratados, indicando que o uso da papaina aumentou a migração destas células ao foco inflamatório nas primeiras horas. Já nas 24 horas, o número de PMN estava igual, estatisticamente ao grupo não tratado. Os PMN têm como funções principais a fagocitose e destruição do agente lesivo na inflamação. Em seus grânulos estão presentes enzimas como a lisozima, peroxidase e hidrolases. Em sua superfície, são encontrados receptores para IgG e C₃, que desempenham papel importante na fagocitose imunológica. Estas células, junto com outro fagócito importante, o macrófago, promovem fagocitose imunológica e não imunológica, macropinocitose e micropinocitose (só macrófagos). Além disso, durante a fagocitose, o PMN pode liberar para o tecido enzimas lisossomais e pirógenos (VAN FURTH et al)²⁶. Neste modelo experimental, a cinética celular sugere que os PMN podem

resolver a agressão sem que a participação de outras células inflamatórias seja necessária (sob o aspecto quantitativo). O que a papaina fez foi aumentar esta resposta celular, talvez na tentativa de se resolver o processo com maior eficácia. O mecanismo desta estimulação da migração não sabemos, pois esta enzima foi pouco estudada como anti-inflamatório. Sabe-se que ela tem ação fibrinolítica (SASAKI et al)¹⁹ e inativa Antitrombina III (VALERI et alii)²⁵, aumentando a ação da trombina sobre o fibrinogênio e consequente formação de fibrina. O aumento de fibrina está relacionado ao aumento da liberação de prostaglandinas, particularmente as chamadas pro-inflamatórias (PGE_2 , PGI_2) (TAUSSIG)²⁴. A PGE_2 não é quimiotática, mas produz quimioquinesa (JOHNSTON et alii)¹¹, fenômeno caracterizado pelo aumento na movimentação não direcionada das células envolvidas na diapedese. Os PMN, então, sob a ação da PGE_2 , movimentam-se mais, e esta condição facilita o encontro com substâncias quimiotáticas que por ventura estejam perto. Como já foi citado, o modelo experimental utilizado caracteriza-se pelo acúmulo precoce de PMN na cavidade peritoneal. É lícito, então, concluir que existem substâncias quimiotáticas agindo neste modelo. Deste modo, sob a ação da papaina, haveria maior liberação de PGE_2 no local inflamado, com consequente aumento da quimioquinesa, que se refletiria no maior afluxo de PMN à cavidade peritoneal, pois haveria maior probabilidade destas células sofrerem ação de substâncias quimiotáticas envolvidas no processo.

Evidentemente, a afirmação que a papaina tem alguma influência sobre a síntese de prostaglandinas carece de fundamento, mas indiscutivelmente é um assunto que merece ser estudado. Ao

voltarmos a nossa atenção para outro anti-inflamatório enzimático vegetal mais estudado, a bromelina, notamos algumas semelhanças de ação. A bromelina é composta por enzimas proteolíticas encontradas em plantas de família Bromeliaceae (Ananas comosus) (SILVA et alii)²¹. Esta enzima promove, como a papaina, a digestão do exudato inflamatório, tem ação fibrinolítica facilitando a cicatrização por desbridamento. Além disso, existem evidências de que a bromelina, ao ativar o plasminogênio, desencadeia a lise de fibrina com consequente formação de peptídeos ativos que estimulariam a síntese de prostaglandinas anti-inflamatórias, que contribuiriam para acelerar a cura. TAUSSIG²⁴, baseado nesses fatos sugeriu que a bromelina poderia agir sobre o sistema das prostaglandinas com mecanismos diferentes aos das drogas clássicas não esteroides. Esta teoria foi reforçada pelos resultados obtidos por VELLIM et alii²⁶, que mostraram que a bromelina afeta a via da ciclooxigenase, sem interferir com a lipoxigenase. Além disso, OH-ISHI et alii¹⁵ demonstraram que a bromelina ativa o sistema precalicreína-cininas através da ativação do fator XII (Fator de HAGEMAN). É óbvio que não se pode estabelecer uma relação direta entre o modo de ação da bromelina e o modo de ação da papaina. Porém, considerando que ambos são tiolproteases de origem vegetal (ANGELIDES et al⁴; OH-ISHI¹⁴), ambas são efetivas localmente no desbridamento de feridas por ação fibrinolítica e parecem ter ação sobre o plasminogênio, ocorre-nos que, se não há igualdade de ação, é perfeitamente possível que haja uma certa correlação entre os mecanismos de ação das duas enzimas. Provavelmente a papaina age de maneira um pouco diferente que a bromelina, mas nos

mesmos processos. Enquanto a bromelina induz a síntese de prostaglandinas antiinflamatórias, a papaina estimularia a síntese de prostaglandinas pro-inflamatórias, aumentando os níveis de PGE_2 no foco e criando condições para um aumento de fluxo de células polimorfonucleadas. Desta maneira, estas células encarregar-se-iam de acelerar o processo de reparação tecidual.

A papaina, então, estimulou a migração de PMN à cavidade peritoneal neste modelo, e não interferiu com outras células, mostrando que esta enzima apenas aumentou uma resposta que estaria presente frente ao estímulo flogógeno utilizado.

O aumento no número de linfócitos no grupo P3-24h em relação ao grupo P1-24h foi, provavelmente devido ao fato de que no segundo grupo, os linfócitos acham-se em número menor ao do grupo controle P0 (vide gráfico 10). Embora a diferença entre o número de linfócitos do grupo P1-24h e P0 não seja estatisticamente significativa, neste modelo experimental é comum as células mononucleadas sofrerem uma pequena queda, principalmente às custas de macrófagos, quando comparados ao normal. Ao observar a diferença a menos do número de linfócitos do grupo P1-24h em relação ao grupo P-0 e a diferença a mais do grupo P3-24h em relação ao grupo P-0, podemos concluir que, nas comparações dos grupos P3-24h e P1-24h houve uma "soma de diferenças", mas na realidade, o que houve foi uma não alteração do número de linfócitos durante o experimento. Esta "soma de diferenças" não ocorre com macrófagos, pois a diminuição do número destas células é mais pronunciada, e o fenômeno repete-se com quase todos os grupos. Também não ocorre com as células polimorfonucleadas porque, neste modelo há um gran

de afluxo destas células, numa resposta bem longe de ser discreta, e a diferença no número de células representa realmente a diferença de resposta ao agente flogógeno.

Embora não tenha sido objeto de estudo deste trabalho, a absorção de antiinflamatórios enzimáticos pelo TGI sempre é, em parte, contestada. No entanto, nossos resultados demonstram claramente que a enzima é absorvida pelo trato gastrointestinal, desde que foi administrada por via oral e seu efeito sistêmico foi observado de forma inequívoca.

Esperamos, com os resultados oferecidos por nosso trabalho, poder oferecer base experimental para pesquisas mais avançadas na procura do esclarecimento do mecanismo de ação antiinflamatória da papaina. Infelizmente, o uso desta droga e de outras enzimas não é totalmente aceito devido, em grande parte, ao desconhecimento de seu modo de ação e consequente ceticismo na sua eficácia. Se for possível o conhecimento da maneira pelo qual a papaina age, temos certeza que a sua aceitação como agente terapêutico será imediata, porque esta enzima provoca menos efeitos colaterais indesejáveis, e menos graves, que qualquer outro agente antiinflamatório não enzimático conhecido.

Esperamos, portanto, ter contribuído com informações úteis que possam ser utilizadas para aumentar, em particular, o conhecimento da ação deste tipo de droga, e em geral, a capacidade do homem em melhorar a qualidade de vida de todos nós.

VI - CONCLUSÕES

VI - CONCLUSÕES

Nossos resultados experimentais demonstram que a papaina exerceu ação de estimulação sobre a migração de células polimorfo nucleadas à cavidade peritoneal no modelo experimental utilizado. Esta estimulação é dose-dependente, visto que apenas os grupos que receberam doses maiores responderam.

Os resultados demonstram também que a papaina não exerceu influência quantitativa sobre outras células peritoneais neste modelo.

Podemos concluir também que houve absorção de papaina na forma ativa pelo trato gastrointestinal, em quantidade suficiente para gerar efeito.

VII - RESUMO

VII - RESUMO

Os autores investigaram a influência do antiinflamatório enzimático vegetal papaina na migração celular, em inflamação aguda causada por injeção intraperitoneal de ovalbumina em camundongos. O modelo experimental caracteriza-se pelo acúmulo precoce de células polimorfonucleadas (PMN) na cavidade peritoneal após o estímulo (4 a 8 horas). Os resultados mostraram que em animais tratados com papaina ocorreu maior migração de PMN do que em animais não tratados. A papaina, portanto, talvez por um mecanismo que envolva metabólitos ativos do ácido aracdônico, estimulou a migração de células PMN em modelo de inflamação aguda. Esta estimulação pode ser devido à ativação do plasminogenio e inibição da antitrombina III, gerando um aumento nos níveis de PGE_2 no local inflamado. Este estado dá condições de haver maior migração leucocitária ao local. Além disso os resultados confirmaram a absorção da papaina pelo trato gastrointestinal.

VIII - SUMMARY

VIII - SUMMARY

The authors investigated the influence of the enzymatic anti-inflammatory papain on the cellular diapedesis, in acute inflammation caused by intraperitoneal injection of egg albumin in mice. This experimental model is characterized by the early approach of polymorphonuclear (PMN) cells in the peritoneal cavity after the challenge (4 to 8 hours). The results showed more PMN cells in peritoneal cavity of papain treated mice. Therefore, the enzyme, perhaps by a mechanism involving arachidonic acid active metabolites, stimulated the PMN diapedesis in this experimental model. Papain inhibit antithrombin III activity and activate plasminogen, with consequent increase in the PGE_2 levels on the inflammatory focus. This state supply conditions to increase leucocitary diapedesis. After all, the results also indicated the papain absorption by the gastrointestinal tract.

IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- 1 - ANGELIDES, K.J. & FINK, A.L. Mechanism of thiol protease catalysis: Detection and stabilization of a tetrahedral intermediate in papain catalysis. Biochemistry, 18(11): 2363-9, 1979.
- 2 - BAUR, X. Studies on the specificity of human IgE-antibodies to the plant proteases papain and bromelain. Clin. Allergy, 9(5): 451-7, 1979.
- 3 - _____ & FRUHMANN, G. Allergic reactions, including asthma, to the pineapple protease bromelain following occupational exposure. Clin. Allergy, 9(5): 443-50, 1979.
- 4 - BRADBROOK, J.D.; MORRISON, P.J.; ROGERS, H.J. The effect of bromelain on the absorption of orally administered tetracycline. Br. J. clin. Pharmacol., 6(6): 552-4, 1978.
- 5 - BROCKLEHURST, K. & MALTHOUSE, J.P.G. Evidence for a two-state transition in papain that may have no close analogue in ficin. Biochem. J., 191(3): 707-18, 1980.

* Referência Bibliográfica de acordo com a NB-66 de 1978, da Associação Brasileira de Normas Técnicas.

Abreviatura dos periódicos de acordo com World list of scientific periodicals.

- 6 - CHYCZEWSKA, E. et alii. Morphological changes in elastic fibers in the course of experimental papain-induced emphysema in rats. Patol. pol., 29(3): 413-21, 1978.
- 7 - DEVI, S. & SINGH, S. Maternal administration of papain and its effect on the brain of rat foetuses. Indian J. Med. Res., 69: 671-9, 1979.
- 8 - FLINDT, M.L. Allergy to alpha-amylase and papain. Lancet, 1(8131): 1407-8, 1979.
- 9 - FRANKFATER, A. & KUPPY, T. Mechanism of association of N-acetyl-L-phenylanylglucinal to papain. Biochemistry, 20: 5517-24, 1981.
- 10 - HANSCH, C. The interaction of ligands with enzymes. A starting point in drug design. Farmaco, 34(8): 729-42, 1979.
- 11 - JOHNSTON, M.G.; HAY, J.B.; MOVAT, H.Z. The role of prostaglandins in inflammation. Curr. Top. Pathol., 68: 259-87, 1979.
- 12 - MARTIN, J.C.; DANIEL, H.; LE BOUFFANT, L. Experimental study of pulmonary emphysema in rats exposed to coal dust and papain: effects on the infrastructure and the cell dynamics. Am. Ind. Hyg Ass. J., 41(10): 12-19, 1980.

- 13 - NOVEY, H.S. et alii. Papain - induced asthma-physiological and immunological features. J. Allergy clin. Immun., 63: 98-103, 1979.
- 14 - OH-ISHI, S. Fluid phase activation of Hageman Factor (Factor XII) in citrated human plasma by bromelain: an application to the indirect enzymatic assay for Hageman Factor. Thromb. Res., 27(5): 619-23, 1982.
- 15 - _____ et alii. Bromelain, a thiolprotease from pineapple stem, depletes high molecular weight kininogen by activation of Hageman Factor (Factor XII). Thromb. Res., 14: 665-72, 1979.
- 16 - OSUNA, A. et alii. Effect des enzymes protéolytiques sur la pénétration du *Trypanosoma cruzi* dans les macrophages péritonéaux de souris. Annls Parasit. hum. comp., 60(4): 383-8, 1985.
- 17 - ROBSON, M.C. et alii. The efficacy of systemic antibiotics in the treatment of granulating wounds. J. surg. Res., 16: 299-306, 1974.
- 18 - SANDERSON, R.J.; et alii. Alterations in stress distributions around interalveolar pores after exposure to papain in dogs. Am. Rev. resp. Dis., 123(3): 327-32, 1981.

- 19 - SASAKI, T. & KOJIMA, S. Gallium-67 up take and heparan sulfate content of Ehrlich solid tumor in mice. Eur. J. Nucl. Med., 12(4): 182-6, 1986.
- 20 - SILVA, L.C.; ARBEX, S.T.; NEDER, A.C. Efeito de antiinflamatórios enzimáticos (bromelina, escina e papaina) no desenvolvimento de coluna vertebral de ratos. Folha med., 91(1): 5-8, 1985.
- 21 - SINGH, S. & DEVI, S. Effect of papain on foetal chondrogenesis - Result of maternal administration of the enzyme in rats. Indian J. exp. Biol., 18(9): 953-7, 1980.
- 22 - SLUYTERMAN, L.A. & WIJDENES, J. The effect of thiol compounds on the autohydrolysis of papain. Eur. J. Biochem., 113: 189-93, 1980.
- 23 - SMOLARSKY, M. Mechanism of papain catalysis: studies of active-site acylation and deacylation by the stopped-flow technique. Biochemistry, 19: 478-84, 1980.
- 24 - TAUSSIG, S.J. The mechanism of the physiological action of bromelain. Med. Hypotheses, 6(1): 99-104, 1980.

- 25 - VALERI, A.M.; WILSON, S.M.; FEINMAN, R.D. Reaction of anti-thrombin with proteases. Evidence for a specific reaction with papain. Biochim. biophys. Acta, 614(2): 526-33, 1980.
- 26 - VAN FURTH, R. & WILLENZE, R. Phagocytic cells during an acute inflammatory reaction. Curr. Top. Pathol., 68: 179-212, 1979.
- 27 - VELLINI, M. et alii. Possible involvement of eicosonoids in the pharmacological action of bromelain. Arzneimittel - Forsch., 36(1): 110-2, 1986.
- 28 - VIEIRA, S. Introdução à bioestatística. 2. ed. Rio de Janeiro, Campus, 1983. p. 205-21.
- 29 - WALTERS, B.A.I.; RUTHERFORD, J.C.; WALL, J.R. Increased active rosette formation in patients with gastrointestinal cancer after enzyme treatment of lymphocytes in vitro. Aust. N. Z. J. Med., 8(6): 610-4, 1978.
- 30 - WATERS, J.A. & SINGH, A.K. Effects of papain treatment of lymphocytes on the expression of their membrane surface markers. J. clin. Lab. Immun., 12(3): 151-4, 1983.

X - ANEXO

X - ANEXO

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL ABSOLUTA

PO (Grupo Zero)

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS $\times 10^6$	POLIMORFONU- CLEARES $\times 10^6$	LINFÓCITOS $\times 10^6$	MONÓCITOS $\times 10^6$
1	8,4	6,6	0,0	1,8	0,0
2	4,7	3,0	0,2	1,4	0,1
3	5,4	3,7	0,1	1,7	0,0
4	5,9	4,4	0,0	1,5	0,0
5	6,2	4,4	0,2	1,6	0,0
6	8,1	6,0	0,2	1,8	0,0
7	12,5	8,4	0,3	3,8	0,0
8	10,7	8,7	0,1	1,8	0,1
9	13,5	8,2	0,8	4,1	0,4
10	6,2	5,0	0,1	0,9	0,2
11	6,4	4,5	0,1	1,6	0,1
12	8,4	4,7	0,0	3,4	0,3
13	10,7	7,8	0,0	2,8	0,1
14	10,1	6,6	0,2	3,0	0,3
15	5,9	4,4	0,1	1,2	0,1
16	15,3	7,7	0,1	7,2	0,3
17	2,9	2,2	0,0	0,6	0,1
18	3,1	2,0	0,1	0,9	0,1
19	2,6	2,2	0,1	0,3	0,0
20	4,4	3,6	0,0	0,7	0,1
21	4,2	2,8	0,0	1,3	0,1
22	3,3	2,6	0,0	0,7	0,0
23	3,8	2,7	0,0	0,8	0,1
24	4,5	2,9	0,0	1,4	0,2
25	4,1	3,4	0,1	0,5	0,0
26	1,6	1,2	0,1	0,3	0,0
27	2,6	1,8	0,0	0,7	0,1
28	6,7	5,2	0,2	1,3	0,0
29	9,5	5,6	0,0	3,9	0,0
30	7,3	5,1	0,0	2,0	0,2
31	4,0	3,3	0,0	0,5	0,2
32	8,5	6,1	0,1	2,0	0,3
33	7,5	5,6	0,2	1,7	0,0
34	8,9	6,5	0,0	2,0	0,4
35	13,7	8,6	0,3	4,5	0,3
36	6,6	4,4	0,2	1,9	0,1
37	6,7	4,6	0,0	1,3	0,7
38	6,3	3,2	0,0	3,1	0,0
39	6,3	3,9	0,3	2,0	0,1

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL RELATIVA

P0 (Grupo Zero)

Nº	GLOBAL x10 ⁶	MACRÓFAGOS %	POLIMORFONU- CLEARES %	LINFÓCITOS %	MONÓCITOS %
1	8,4	78	0	22	0
2	4,7	83	5	30	2
3	5,4	68	1	31	0
4	5,9	75	0	25	0
5	6,2	71	3	26	0
6	8,1	74	3	23	0
7	12,5	67	2	30	1
8	10,7	81	1	17	1
9	13,5	81	6	30	3
10	6,2	81	1	15	3
11	6,4	71	2	25	2
12	8,4	58	0	41	3
13	10,7	73	0	26	1
14	10,1	65	2	30	3
15	5,9	75	2	21	2
16	15,3	50	1	47	2
17	2,9	76	0	20	4
18	3,1	67	3	28	2
19	2,6	84	3	11	2
20	4,4	82	0	16	2
21	4,2	66	1	30	4
22	3,3	79	0	21	0
23	3,6	74	0	23	3
24	4,5	65	1	30	4
25	4,1	84	3	13	0
26	1,6	76	4	16	4
27	2,6	70	0	26	4
28	6,7	78	3	19	0
29	9,5	59	0	41	0
30	7,3	70	0	28	2
31	4,0	83	0	12	5
32	8,5	72	1	23	4
33	7,5	74	3	23	0
34	8,9	73	0	23	4
35	13,7	63	2	33	2
36	6,6	66	3	29	2
37	6,7	69	0	30	11
38	6,3	50	0	50	0
39	6,3	62	4	31	3

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL ABSOLUTA

P1 - 6 HORAS

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS $\times 10^6$	POLIMORFONU- CLEARES $\times 10^6$	LINFÓCITOS $\times 10^6$	MONÓCITOS $\times 10^6$
1	5,2	2,0	2,2	1,0	0,0
2	10,8	4,3	4,5	1,8	0,2
3	8,4	5,0	1,7	1,0	0,1
4	5,0	3,6	0,8	0,5	0,1
5	5,7	2,9	1,8	1,0	0,0
6	14,7	7,9	4,3	2,2	0,3
7	13,3	6,5	3,2	3,5	0,1
8	5,7	3,5	0,6	1,3	0,3
9	7,7	2,9	4,1	0,7	0,0
10	7,9	4,1	1,7	1,8	0,3
11	11,6	4,1	4,2	3,1	0,2
12	9,5	5,9	2,8	0,8	0,1
13	15,2	10,5	2,6	1,8	0,3
14	5,7	2,9	2,1	0,6	0,1
15	9,6	6,3	2,0	1,3	0,0
16	12,1	6,4	3,0	2,7	0,0
17	4,8	2,1	2,0	0,6	0,1
18	4,7	2,4	1,5	0,8	0,0
19	7,8	4,1	2,6	1,2	0,0
20	3,5	1,6	1,1	0,7	0,1
21	7,9	3,2	3,5	1,1	0,1
22	6,8	3,1	2,3	1,2	0,1
23	6,6	2,6	2,1	1,8	0,1
24	7,9	4,7	1,7	1,4	0,1
25	8,0	4,2	2,0	1,5	0,3
26	12,5	7,1	3,4	1,9	0,1
27	8,7	3,0	2,6	2,8	0,3
28	8,1	3,6	1,5	2,5	0,5

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL RELATIVA

P1 - 6 HORAS

Nº	GLOBAL x10 ⁶	MACRÓFAGOS %	POLIMORFONU- CLEARES %	LINFÓCITOS %	MONÓCITOS %
1	5,2	39	42	19	0
2	10,8	40	42	17	1
3	8,4	59	20	20	1
4	5,0	72	17	9	2
5	5,7	50	32	17	1
6	14,7	54	29	15	2
7	13,3	49	24	26	1
8	5,7	61	11	23	5
9	7,7	38	53	9	1
10	7,9	52	21	23	4
11	11,6	35	36	27	2
12	9,5	62	29	8	1
13	15,2	69	17	12	2
14	5,7	51	37	10	2
15	9,6	66	21	13	0
16	12,1	53	25	22	0
17	4,8	44	41	13	2
18	4,7	51	32	17	0
19	7,8	52	33	15	0
20	3,5	45	32	21	2
21	7,9	41	44	14	1
22	6,8	46	34	18	2
23	6,6	39	32	27	2
24	7,9	59	22	18	1
25	8,0	53	25	19	3
26	12,5	57	27	15	1
27	8,7	35	30	32	3
28	8,1	45	19	31	5

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL ABSOLUTA

P1 - 24 HORAS

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS $\times 10^6$	POLIMORFONU- CLEARES $\times 10^6$	LINFÓCITOS $\times 10^6$	MOSTÓCITOS $\times 10^6$
1	7,6	4,5	1,7	1,4	0,1
2	10,0	5,0	2,0	3,0	0,0
3	14,3	9,6	3,0	1,6	0,1
4	2,8	1,4	0,5	0,9	0,0
5	3,1	2,0	0,1	0,9	0,1
6	5,6	3,2	0,3	1,8	0,2
7	6,5	4,0	1,0	1,4	0,1
8	4,8	2,9	0,8	1,0	0,1

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL RELATIVA

P1 - 24 HORAS

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS %	POLIMORFONU- CLEARES %	LINFÓCITOS %	MOSTÓCITOS %
1	7,6	59	22	18	1
2	10,0	48	24	28	0
3	14,3	67	21	11	1
4	2,8	49	19	32	1
5	3,1	64	2	30	4
6	5,6	58	5	33	4
7	6,5	61	15	22	2
8	4,8	61	16	21	2

CONTAGEM GLOBAL E DIFERENCIAL ABSOLUTA

P2

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS $\times 10^6$	POLIMORFONU- CLEARES $\times 10^6$	LINFÓCITOS $\times 10^6$	MOSTÓCITOS $\times 10^6$
1	9,2	4,5	0,2	4,4	0,1
2	12,3	7,4	0,4	4,5	0,0
3	10,4	8,4	0,1	1,8	0,1
4	15,5	10,7	0,6	4,0	0,2
5	12,8	9,2	0,1	3,1	0,4
6	6,2	4,5	0,0	1,7	0,0
7	3,9	3,4	0,0	0,5	0,0
8	1,8	1,4	0,0	0,3	0,0
9	4,1	3,4	0,0	0,5	0,2
10	4,4	3,2	0,2	0,8	0,2
11	6,4	4,1	0,0	2,1	0,2
12	6,6	5,2	0,1	1,1	0,2
13	4,9	3,5	0,1	1,0	0,3
14	6,4	4,5	0,1	1,7	0,1
15	7,6	5,5	0,1	2,0	0,1

CONTAGEM GLOBAL E DIFERENCIAL RELATIVA

P2

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS %	POLIMORFONU- CLEARES %	LINFÓCITOS %	MOSTÓCITOS %
1	9,2	49	2	48	1
2	12,3	60	3	37	0
3	10,4	81	1	17	1
4	15,5	69	4	26	1
5	12,8	72	1	24	3
6	6,2	73	0	27	0
7	3,9	87	0	13	0
8	1,8	80	0	17	3
9	4,1	83	0	13	4
10	4,4	72	4	19	5
11	6,4	64	0	33	3
12	6,6	79	1	17	3
13	4,9	72	1	21	6
14	6,4	70	1	27	2
15	7,6	72	1	26	1

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL ABSOLUTA

P3 - 6 HORAS

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS $\times 10^6$	POLIMORFONU- CLEARES $\times 10^6$	LINFÓCITOS $\times 10^6$	MONÓCITOS $\times 10^6$
1	10,7	8,0	1,4	1,3	0,0
2	8,6	5,9	1,5	0,9	0,2
3	10,4	3,9	2,3	3,9	0,2
4	16,2	8,1	4,2	3,9	0,0
5	8,5	3,9	2,3	2,1	0,2
6	7,4	4,4	2,0	1,0	0,0
7	5,8	2,8	1,9	1,9	0,2
8	4,8	2,3	1,3	1,1	0,1
9	7,6	4,1	1,6	1,6	0,2
10	3,2	1,9	1,0	0,3	0,0
11	3,7	2,1	1,0	0,6	0,0
12	8,3	3,9	1,8	2,6	0,0
13	4,4	2,1	1,5	0,7	0,1
14	4,1	2,1	1,2	0,8	0,2
15	4,7	2,6	1,3	0,6	0,2
16	11,7	5,5	4,8	1,3	0,1
17	8,1	3,7	3,2	1,0	0,2
18	8,4	3,7	3,0	1,5	0,2
19	27,8	13,6	9,5	4,4	0,3
20	10,4	5,0	4,5	0,6	0,1

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL RELATIVA

P3 - 6 HORAS

Nº	GLOBAL x10 ⁶	MACRÓFAGOS %	POLIMORFONU- CLEARES %	LINFÓCITOS %	MONÓCITOS %
1	10,7	75	13	12	0
2	8,6	69	18	11	3
3	10,4	38	22	38	2
4	16,2	50	26	24	0
5	8,5	46	27	25	2
6	7,4	59	27	13	1
7	5,8	48	32	18	2
8	4,8	48	27	23	2
9	7,6	54	21	23	2
10	3,2	60	32	6	2
11	3,7	56	27	17	0
12	8,3	47	22	31	0
13	4,4	47	33	17	3
14	4,1	52	30	13	5
15	4,7	56	27	13	4
16	11,7	47	41	11	1
17	8,1	46	39	12	3
18	8,4	44	36	18	2
19	27,8	49	34	16	1
20	10,4	48	43	8	1

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL ABSOLUTA

P3 - 24 HORAS

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS $\times 10^6$	POLIMORFONU- CLEARES $\times 10^6$	LINFÓCITOS $\times 10^6$	MONÓCITOS $\times 10^6$
1	10,7	6,3	1,3	3,1	0,0
2	5,3	3,2	1,0	1,0	0,1
3	10,4	4,8	1,1	4,0	0,5
4	9,8	4,9	1,6	3,1	0,2
5	6,5	4,0	0,7	1,8	0,1
6	7,7	4,9	0,8	2,0	0,1
7	10,1	4,7	2,2	3,1	0,0
8	5,1	3,1	0,7	1,2	0,1
9	8,9	5,5	0,5	2,7	0,2
10	7,5	4,1	1,3	1,9	0,2

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL ABSOLUTA

5P3 - 24 HORAS

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS %	POLIMORFONU- CLEARES %	LINFÓCITOS %	MONÓCITOS %
1	10,7	59	12	29	0
2	5,3	61	19	18	2
3	10,4	46	11	38	5
4	9,8	50	16	32	2
5	6,5	61	11	27	1
6	7,7	63	10	26	1
7	10,1	47	22	31	0
8	5,1	61	14	23	2
9	8,9	62	6	30	2
10	7,5	55	17	25	3

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL RELATIVA

5P3 - 24 HORAS

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS $\times 10^6$	POLIMORFONU- CLEARES $\times 10^6$	LINFÓCITOS $\times 10^6$	MOSTÓCITOS $\times 10^6$
1	7,7	4,9	0,8	1,8	0,1
2	9,8	6,4	1,8	1,6	0,1
3	8,0	5,0	0,9	2,1	0,0
4	9,9	6,9	0,8	2,2	0,0
5	7,4	5,2	0,7	1,3	0,2
6	6,0	3,4	1,2	1,4	0,0
7	12,2	5,7	3,9	2,4	0,1
8	9,9	4,6	2,0	3,3	0,1
9	11,7	7,8	2,0	1,8	0,1
10	5,3	3,2	0,4	1,7	0,0

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL RELATIVA

5P3 - 24 HORAS

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS %	POLIMORFONU- CLEARES %	LINFÓCITOS %	MOSTÓCITOS %
1	7,7	64	10	24	2
2	9,8	65	18	16	1
3	8,0	63	11	26	0
4	9,9	70	8	22	0
5	7,4	70	10	17	3
6	6,0	56	20	24	0
7	12,2	47	32	20	1
8	9,9	46	20	33	1
9	11,7	67	17	15	1
10	5,3	60	8	32	0

CONTAGEM GLOBAL E DIFERENCIAL RELATIVA

5P3 - 6 HORAS

Nº	GLOBAL x10 ⁶	MACRÓFAGOS %	POLIMORFONU- CLEARES %	LINFÓCITOS %	MONÓCITOS %
1	14,6	68	10	21	1
2	20,9	35	36	29	0
3	11,6	58	23	16	3
4	10,5	56	23	19	2
5	8,4	50	22	26	2
6	6,0	49	26,	22	3
7	7,7	39	31	29	1
8	5,9	52	33	14	1
9	8,6	42	25	32	1
10	2,4	39	42	16	3
11	4,7	51	33	13	3
12	7,9	62	31	7	0
13	9,8	31	56	11	2
14	6,5	43	32	25	0
15	14,4	47	37	13	3
16	7,4	45	33	18	4
17	12,4	41	34	25	0
18	6,5	56	26	15	4
19	11,6	46	43	10	1

CONTAGENS GLOBAL E DIFERENCIAL ABSOLUTA

5P3 - 6 HORAS

Nº	GLOBAL $\times 10^6$	MACRÓFAGOS $\times 10^6$	POLIMORFONU- CLEARES $\times 10^6$	LINFÓCITOS $\times 10^6$	MONÓCITOS $\times 10^6$
1	14,6	9,9	1,5	3,1	0,1
2	20,9	7,3	7,5	6,1	0,0
3	11,6	6,7	2,7	1,9	0,3
4	10,5	5,9	2,4	2,0	0,2
5	8,4	4,2	1,8	2,2	0,2
6	6,0	2,9	1,6	1,3	0,2
7	7,7	3,0	2,4	2,2	0,1
8	5,9	3,1	2,0	0,8	0,0
9	8,6	3,6	2,2	2,8	0,0
10	2,4	0,9	1,0	0,4	0,1
11	4,7	2,4	1,5	0,6	0,2
12	7,9	4,9	2,4	0,6	0,0
13	9,8	3,0	5,5	1,1	0,2
14	6,5	2,8	2,1	1,6	0,0
15	14,4	6,8	5,3	1,9	0,4
16	7,4	3,3	2,4	1,3	0,3
17	12,4	5,1	4,2	3,1	0,0
18	6,5	3,6	1,7	1,0	0,3
19	11,6	5,3	5,0	1,2	0,1

GRÁFICO A

Cinética da migração celular à cavidade peritoneal de camundongos em modelo experimental de inflamação aguda (agente flogêno: ovoalbumina).

Diferencial Absoluta

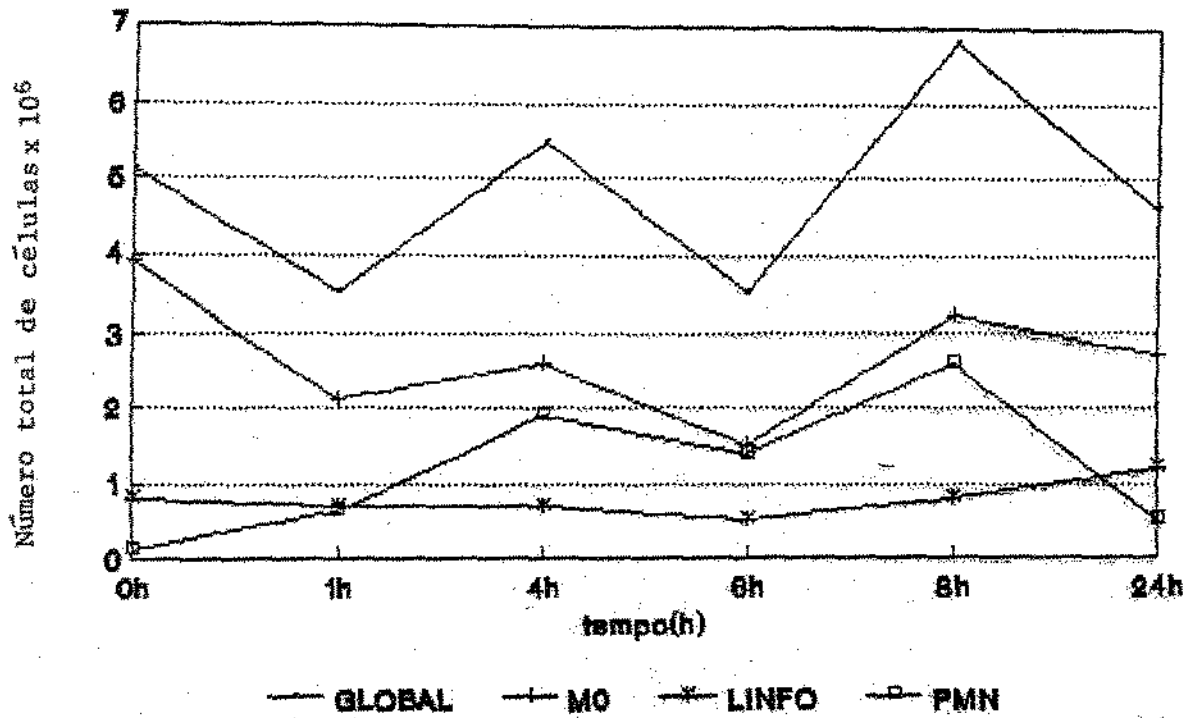


GRÁFICO B

Cinética da migração celular à cavidade peritoneal de camundongos em modelo experimental de inflamação aguda (agente flogógeno: ovoalbumina).

Diferencial Relativa

