

*... de ...
... de ...
... de ...
... de ...
... de ...*

PEDRO PAULO BARROS

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA TRIPSINA, ALFA-QUIMOTRIPSINA
E PARACETAMOL, NO DESENVOLVIMENTO DO TECIDO
DE GRANULAÇÃO, EM RATOS

*... de ...
... de ...
... de ...
... de ...
... de ...*

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campi-
nas, para obtenção do grau de
Doutor em Ciências. Área de Con-
centração: Farmacologia.

PIRACICABA - SP

1989

...

IN MEMORIAN...

Ao meu pai, RAUL BARROS, por
ter transmitido aos seus fi
lhos e netos, o legado da ho
nestidade, da firmeza de ca
rãter, da dignidade e da lu
ta pela vida, através do
exemplo constante,

a minha saudade!

À minha mãe, MARIA CECILIA
por todo o seu sacrifício,
por todas as suas lágrimas,
seu imenso amor e dedicação!

À meus irmãos e sobrinhos,

minha eterna gratidão.

À minha sempre querida esposa RAQUEL, grande amiga e companheira, que com amor, dedicação e renúncia, tem me ajudado a caminhar sempre de cabeça erguida a vencer os obstáculos desta jornada, tão dura, porém muito gratificante;

Às minhas filhas LUCIANA e CAMILA, referenciais da minha vida!

dedico este trabalho.

Ao Professor Doutor THALES ROCHA DE MATTOS FILHO,
orientador competente, pesquisador de aguça
do espírito científico, nos conduziu duran-
te todas as etapas desta pesquisa, incenti-
vando no prosseguimento de um trabalho sé-
rio, sofrendo junto, quando as inúmeras di-
ficuldades apareciam, dividindo sempre co-
nosco as alegrias alcançadas!

nossos agradecimentos.

AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Doutor PAULO RENATO COSTA SOUZA Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, pela manutenção do alto nível de ensino e pesquisa nesta Universidade;
- ao Professor Doutor SIMONIDES CONSANI, Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela atenção dirigida ao ensino de Pós-Graduação;
- ao Professor Doutor OSLEI PAES DE ALMEIDA, Digníssimo Coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela sua atenção e apôio;
- ao Professor Doutor JAIME APARECIDO CURY, Chefe do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela atenção e apôio recebidos;
- ao Professor Doutor JOSÉ RANALI, pela amizade fraterna com que sempre nos distinguiu, pelo incentivo constante em todo transcorrer deste trabalho;
- ao Professor Doutor EDUARDO DIAS DE ANDRADE, que muito nos honrou com a sua amizade, pela ajuda valiosa dispensada na elaboração desta pesquisa;
- ao Professor Doutor MINORU SAKATE, meu primeiro mestre em pesquisas farmacológicas, nossa gratidão pelo muito que representou em nossa formação;
- ao Professor Doutor MARIO ROBERTO VIZIOLI, pela amizade, atenção e auxílio na documentação fotográfica deste trabalho;
- nossos agradecimentos à Área de Patologia Dental, da Faculda-

de de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela cessão das instalações laboratoriais, onde foi possível realizar grande parte desta pesquisa;

à Área de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, na pessoa da Profa. Dra. TEREZA DE LOURDES SCARPARI BARRICHELO, pela atenção e utilização do histo fotômetro;

à Professora Doutora SONIA VIEIRA, pela orientação e correção dos estudos estatísticos;

ao Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela concessão de Bolsas Incentivo e Monitoria II durante o transcorrer do curso;

à Dna. IVANY DO CARMO GUIDOLIN GEROLA, que gentilmente nos au xiliou na ordenação da revisão bibliográfica deste traba lho;

aos Técnicos, JOSÉ CARLOS GREGÓRIO; MARIA HELENA DE VASCONCELOS PERON e PEDRO DUARTE NOVAES, pelo auxílio igualmente importante na fase experimental da Tese;

às Secretárias, SUZETE REGINA DE BARROS TOBIAS e VILMA BIZUTI DOS SANTOS, pela dedicação na realização de serviços da tilográficos, ao longo de todo este curso;

aos Srs. ADÁRIO CANGIANI e PEDRO SÉRGIO JUSTINO, que nos auxi liaram na realização de serviços fotográficos;

à Sra. MARIA APARECIDA NALIN, pela presteza e competência na datilografia do original da Tese;

aos colegas Professores do Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biológicas da Pontifícia Universidade Católica de Campinas - PUCCAMP, pela amiza-

Í N D I C E

CAPÍTULO I	PÁG.
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
CAPÍTULO II	
1. PROPOSIÇÃO DO TRABALHO	19
CAPÍTULO III	
1. MATERIAIS E MÉTODOS	21
2. SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA	26
CAPÍTULO IV	
1. RESULTADOS	
1.1. COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA-EOSINA.....	41
1.2. TÉCNICA HISTOFOTOMÉTRICA PARA ESTUDO DA SÍNTESE DE MUCOPOLISSACARÍDEOS ÁCIDOS - (GLICOSAMINOGLICANAS). ANÁLISE ESTATÍS- TICA	53
CAPÍTULO V	
1. DISCUSSÃO	74
CAPÍTULO VI	
1. CONCLUSÕES	83
CAPÍTULO VII	
1. RESUMO	85
CAPÍTULO VIII	
1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
APÊNDICE	
MEDIDAS HISTOFOTOMÉTRICAS	96

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

Os seres humanos, devem à inflamação e ao reparo, sua capacidade de conter lesões e cicatrizar os ferimentos. Sem a inflamação, as infecções bacterianas cursariam sem obstáculos, os ferimentos jamais se curariam e os tecidos e órgãos lesados permaneceriam com ferimentos constantes.

Poderíamos dizer então, que a inflamação é bem definida como uma reação local do tecido vascularizado às agressões, sendo portanto um processo homeostático em defesa do organismo ofendido (ROBBINS, 1986).

Independente da natureza do agente agressor, a resposta inflamatória é sempre iniciada pela liberação local de mediadores químicos, os quais, entre outras ações, promovem o aumento da permeabilidade vascular e, desta forma, a passagem de líquidos e células do sangue para o espaço intersticial.

Esse processo de exsudação, tem por objetivo destruir ou neutralizar os agentes agressores e, ainda, favorecer a reparação tecidual consequente à agressão.

A reparação inicia-se com a proliferação de fibroblastos e a multiplicação de pequenos vasos sanguíneos, os quais são formados graças às mitoses das células endoteliais.

A proliferação celular invade o exsudato que é reabsorvido, produzindo uma massa avermelhada, altamente vascularizada, que recebe o nome de tecido de granulação.

O tecido de granulação é, sem dúvida, dentro do complexo mecanismo de reparação tecidual, o evento mais importante.

Os tecidos de granulação, induzidos artificialmen

te em animais de laboratório, utilizando-se de diferentes técnicas, têm sido usados como modelo experimental, em pesquisas dos mais diversos aspectos ligados à gênese e evolução dos processos de cura do organismo animal. A síntese de colágeno e seu posterior desenvolvimento, foram bastante estudados em tecidos de granulação e numerosas são as pesquisas realizadas, objetivando o estudo da morfologia do colágeno, sua cronologia de síntese, bem como, aspectos bioquímicos e fisiológicos dos componentes estruturais que, direta ou indiretamente, participam do tecido de granulação (Mc MINN & PEACOCK JR., 1968; ROSS, 1968; VIZIOLI, 1973; COHEN, LEWIS & RESNIK, 1975; VIZIOLI, 1975; DE LAUNAY & BAZIN, 1975; BAZIN, LE LOUS & DE LAUNAY, 1976).

O tempo, durante o qual a síntese de colágeno se inicia e evolue, tem sido um dos principais aspectos estudados pela maioria dos autores.

A opinião geral é de que a síntese de fibras colágenas, no processo de reparação, tem início ao redor do 4º dia pós-injúria, atingindo um grau máximo de desenvolvimento entre 15 a 20 dias, e, posteriormente, decai progressivamente.

Não é desnecessário lembrar que, etapas iniciais do processo de síntese de colágeno ocorrem intracelularmente, mais especificamente, nos ribossomos do retículo endoplasmático rugoso dos fibroblastos secretores.

Em continuidade ao processo de síntese, o material produzido é então transferido para as vesículas do Aparelho de Golgi ou diretamente para o espaço extracelular como moléculas de protocolágeno, onde agregam-se pela polimerização que ocorre.

Assim, as moléculas de protocolágeno extracelular vão se agregando, tanto lateral quanto longitudinalmente, às células que lhes deram origem, formando fibrilas de colágeno, e estas, por sua vez, unem-se em fibras que podem ser visualizadas ao microscópio óptico.

Por outro lado, a substância fundamental formada principalmente por um mucopolissacarídeo ácido (glicosaminoglicana), o ácido hialurônico, é indispensável ao processo de agregação das fibrilas de colágeno, funcionando como substância cimentante, no sentido de formar fibras e feixes de fibras.

Esses compostos encontram-se presentes no tecido de granulação desde os primeiros instantes de sua formação, e aumentam bastante durante a fase de proliferação dos fibroblastos que os produzem.

De acordo com BENTLEY (1967), e posteriormente confirmado por VIZIOLI (1975), o conteúdo de mucopolissacarídeos ácidos livres no tecido de granulação é bastante grande até o 15º dia após o início do processo e, posteriormente a esse período, a quantidade decresce, mostrando que a síntese dessas substâncias é bastante ativa durante aproximadamente 15 dias, após o que elas vão se ligando às fibras, agregando os feixes de colágeno e, conseqüentemente, contribuindo, entre outros fatores, para a maturação final do tecido.

Ao lado dos estudos morfológicos relacionados com a fase proliferativa do processo inflamatório, encontramos trabalhos que têm por objetivo estudar a ação de substâncias que interferem, através de mecanismos diversos, na cronologia de síntese e maturação de colágeno, ou seja, substâncias com propriedades antiinflamatórias.

Substâncias enzimáticas, como a tripsina e a quimotripsina, tem sido usadas como drogas de ação antiinflamatória desde o início deste século.

A tripsina e a quimotripsina são sintetizadas pelas células exócrinas do pâncreas, na forma de seus respectivos zimogênios enzimáticos inativos: tripsonogênio e quimotripsinogênio.

A síntese destas enzimas, a partir de precursores inativos, protege as células exócrinas de um ataque proteolítico destrutivo.

Depois que o tripsinogênio entra no intestino delgado é convertido na sua forma ativa tripsina, pela ação da enteroquinase, uma enzima proteolítica secretada pelas células intestinais.

Desde que alguma tripsina tenha sido formada, ela também pode catalizar a conversão do tripsinogênio em tripsina.

O quimotripsinogênio, no intestino delgado, é convertido a quimotripsina por ação catalítica da tripsina.

A tripsina hidrolisa aquelas ligações peptídicas cujos grupos carbonila sejam oferecidos pelos resíduos lisina e arginina. Por outro lado, a quimotripsina hidrolisa ligações peptídicas envolvendo os resíduos da fenilalanina, tirosina e triptofano.

Desta forma, a tripsina e a quimotripsina hidrolisam em peptídeos menores os polipeptídeos resultantes da ação da pepsina no estômago.

Nestes últimos anos, numerosos foram os trabalhos que demonstraram a utilidade do emprego das enzimas proteolíticas no tratamento de diferentes doenças de caráter inflama-

tório.

UGOLINI (1963), cita que, inicialmente estas enzimas, principalmente a tripsina, foram usadas como medicação tópica, devido a digestão por elas promovida sobre os tecidos necróticos. Mais tarde, INNERFIELD (1953), fez uso da tripsina por via intramuscular, empregando-a no tratamento das tromboflebitides.

MARTIN (1960), trabalhando com pacientes portadores das mais variadas afecções nos membros inferiores, tais como lesões ulcerativas, tromboflebitides e arteriosclerose ocliterante, tratou-os com Parenzyme^R em administrações intramusculares, onde o tratamento com esteróides estava contraindicado. Bons resultados foram encontrados em 75% dos casos.

A literatura tem mostrado, também, o emprego das enzimas proteolíticas na resolução de hematomas (STUTEVILLE, 1964), no tratamento de afecções respiratórias (FIGUEROLA, 1957), em cirurgias experimentais, com o objetivo de se obter melhor cicatrização (VELAZQUEZ e colab., 1963; ATHIE e colab., 1965).

Entretanto, SHERRY & FLETCHER (1960), mostram em seu trabalho, que o emprego clínico das enzimas proteolíticas administradas isoladamente, assim como, associadas à substâncias analgésicas e antibióticas, têm sido indicadas em quatro situações distintas, como as desordens gastrintestinais, para a lise de coleções protêicas, como adjuvantes na terapêutica tromboembólica e como antiinflamatórios.

No campo da odontologia, vamos encontrar o emprego terapêutico das enzimas proteolíticas em cirurgias (FEINMAN e colab., 1967; KIESER e colab., 1977).

Por outro lado, os chamados analgésicos de alca-

trão, fenacetina, e o seu metabólito ativo, paracetamol, têm sido utilizados como alternativas eficazes, frente a aspirina, como antipiréticos e analgésicos. Entretanto suas atividades antiinflamatórias têm sido descritas como fracas.

Em experimentos com animais, pode-se demonstrar o efeito antiinflamatório do paracetamol com doses maiores do que as necessárias para a analgesia. Sabe-se, no entanto, que o paracetamol é apenas um inibidor fraco da biosíntese de prostaglandinas, embora exista alguma evidência, sugestiva, de que ele seja mais eficaz contra enzimas do SNC que da periferia (GOODMAN & GILMAN, 1987).

No entanto, esta substância é encontrada associada com enzimas proteolíticas, em medicamentos utilizados no tratamento dos processos antiinflamatórios e como analgésico.

Porém, são carentes os estudos específicos dos efeitos da tripsina, quimotripsina e mesmo do paracetamol sobre a cronologia de biosíntese e maturação do colágeno no tecido de granulação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As enzimas proteolíticas têm sido objeto de muitas investigações por parte dos pesquisadores, a respeito de suas possíveis ações antiinflamatórias, ou como adjuvantes, na resolução de processos inflamatórios crônicos e/ou agudos. Assim, como poderemos constatar a seguir, os estudos com essas enzimas têm sido realizados com os mais diversos objetivos, no sentido de se elucidar a sua própria farmacocinética, suas possíveis ações antiinflamatórias e interações com os inibidores plasmáticos existentes.

Nesse sentido, INNERFIELD e colab. (1952), através de trombos intravasculares, experimentalmente induzidos, em cães e coelhos, estudaram a participação da tripsina na resolução dos mesmos. Os autores concluíram que a tripsina, administrada intravenosamente, induz efeitos líticos que se opõem à formação de trombos intravasculares nos animais tratados.

O mesmo INNERFIELD (1953), constatou que a ação terapêutica da tripsina seria a soma dos seguintes fenômenos: 1) despolimerização das moléculas proteicas de grande peso molecular; 2) redução da viscosidade dos fluídos encapsulados e dos produtos de secreção; 3) potenciação da fagocitose; 4) restituição do fluxo hemático; 5) aumento da circulação colateral; 6) recuperação da drenagem efetiva; 7) correção das alterações metabólicas por aumento da concentração hidrogeniônica e inibição da glicólise anaeróbica, que se desenvolveriam em correspondência com o local do processo inflamatório.

Saber se uma enzima pode ou não ser absorvida pe-

lo trato gastrointestinal, sempre preocupou os estudiosos que trabalhavam com enzimas proteolíticas, administradas por essa via.

Assim, MARTIN e colab. (1957), através da administração das enzimas proteolíticas, tripsina e quimotripsina, no trato gastrointestinal, obtiveram inibição do edema induzido experimentalmente em patas de ratos (KLEINFELD e HABIF, 1954).

A via oral foi também investigada por MILLER e colab. (1960), através da administração de tripsina marcada com ^{131}I , em pacientes, onde evidenciaram a tripsina presente no soro dos pacientes tratados.

KABACOFF e colab. (1963), utilizando-se de coelhos em seus experimentos, administraram quimotripsina pelas vias retal, intestinal e intramuscular. Os níveis plasmáticos da quimiotripsina foram medidos através da hidrólise em substratos específicos. Os resultados mostraram que as vias intestinal e retal podem ser utilizadas para administração dos enzimas, visto que a quimotripsina foi bem absorvida pelo trato gastrointestinal, na sua forma enzimática ativa.

A via subcutânea foi estudada por BOGNER e colab. (1959), onde os autores fazendo uso da tripsina marcada com ^{131}I , mostraram que níveis plasmáticos de radioatividade foram detectados a partir de 25 minutos após administração, e seus valores máximos foram encontrados até 3 horas após administração, realizada em ratos.

Com relação à utilidade terapêutica das enzimas proteolíticas pancreáticas, STUTEVILLE (1964), estudando a participação das mesmas na resolução de hematomas, em humanos, mostrou que essas enzimas foram mais efetivas que as de origem vegetal e que os corticosteróides, às 24 horas e aos

7, 14 e 21 dias após o trauma.

FIGUEROLA (1957), relatou os resultados encontrados em 10 pacientes portadores de problemas crônicos respiratórios tratados com tripsina e quimotripsina, administradas sob forma de comprimidos. Em todos os casos os resultados encontrados foram satisfatórios.

SPIÉGEL (1958), mostrou a drástica redução do sofrimento, assim como do tempo de cura, de pacientes portadores de osteomielite alveolar aguda localizada, quando administrou Parenzyme^R aquoso por via intramuscular e topicamente.

MARTIN (1960), trabalhando com pacientes portadores de lesões ulcerativas, tromboflebites obliterantes, arterioscleroses obliterantes e eczemas, tratou-os com Parenzyme^R, administrado por via intramuscular, onde o tratamento com esteróides era contra indicado. Bons resultados foram encontrados em 75% dos casos.

Em uma avaliação terapêutica a respeito das enzimas proteolíticas, SHERRY & FLETCHER (1960), relatam em seu trabalho que, em geral, as enzimas proteolíticas têm sido usadas em quatro situações, a saber: 1) no tratamento de distúrbios do trato gastrointestinal como no caso da pancreatite crônica; 2) como agentes solubilizadores das coleções purulentas; 3) como agente trombolítico e 4) como agente antiinflamatório.

BECK e colab. (1960), realizaram estudo clínico em 106 pacientes portadores de diversos processos inflamatórios como tromboflebites, celulites, conjuntivites e hematomas pós-operatórios, onde comprovaram a marcante ação antiinflamatória da quimotripsina administrada parenteralmente (IM), em mais de 74% dos casos.

VELAZQUEZ e colab. (1963), fizeram uso de enzimas proteolíticas, tripsina e quimotripsina, em cirurgias experimentais, em cães. Objetivou o trabalho da equipe, as observações sobre as aderências pleurais onde puderam comprovar que nos animais tratados com enzimas proteolíticas encontrou-se menor quantidade de aderências, de edema e de fibrina no tecido de cicatrização, quando comparado com o grupo testemunho, que não recebeu tratamento com enzimas, não se observando também nenhuma alteração no material de sutura utilizado (catgut).

A recuperação de um paciente operado é conseguida, fundamentalmente, se os tecidos incisados no ato cirúrgico evoluem satisfatoriamente no processo de cicatrização, e quando se tem restabelecidas as funções dos órgãos que sofreram a cirurgia. Não há dúvidas de que os processos inflamatórios estão incluídos entre alguns dos problemas que retardam a recuperação dos pacientes.

Com o objetivo de se eliminar esses fatores indesejáveis do processo de cura, ATHIE e colab. (1965), trataram de 350 enfermos de ambos os sexos, cujas idades variaram de 5 a 89 anos, os quais se submeteram aos mais variados tipos de cirurgia. Os resultados observados mostraram que a administração das enzimas proteolíticas de origem pancreática, seja por via oral, seja parenteral, antes ou depois da intervenção cirúrgica, determinaram uma importante redução na aparição das complicações comuns que se seguem às intervenções cirúrgicas.

Resultados semelhantes foram obtidos por REYES e colab. (1967), utilizando a tripsina e quimiotripsina em cirurgias ortopédicas, ACOSTA (1969), utilizando enzimas proteo

líticas associadas ao paracetamol, em cirurgias reconstrutivas e funcionais do nariz, e RANGEL (1970), estudando os resultados, obtidos de pacientes que se submeteram a cirurgia otorrinolaringológica, tratados com Parenzyme Analgésico^R.

VIEIRA (1973), estudou 32 pacientes portadores de otite crônica exsudativa com otorrêia rebelde, os quais foram submetidos a tratamento cirúrgico corretivo. Com o aparecimento da supuração auricular, foram administrados tripsina e quimotripsina por via oral e os resultados foram considerados de bons a excelentes devido ao desaparecimento da dor, febre, congestão e edema pós-operatório.

Com relação à associação das enzimas proteolíticas com outras drogas, SENECA e PEER (1963), demonstraram que a associação entre a tetraciclina e a quimotripsina, administradas por via oral, determinava níveis sanguíneos mais elevados de tetraciclina no soro humano, do que quando este antibiótico era administrado isoladamente. Estes autores puderam concluir que a enzima proteolítica acelerava ou aumentava o grau de absorção da tetraciclina no trato gastrintestinal.

PERNOD e ARCHANE (1965), efetuaram estudo clínico no que diz respeito a ação de enzimas proteolíticas sobre a expectoração, associadas a um antibiótico de largo espectro, como é o caso de tetraciclina. Os autores trataram 20 pacientes e relatam no seu trabalho, que a tolerância ao tratamento foi excelente, inclusive nos pacientes asmáticos. Notaram também a redução da febre, volume e viscosidade da expectoração.

ESCARZAGA (1966), estudou em 39 pacientes portadores de infecções provocadas por bactérias sensíveis ao cloranfenicol, a associação medicamentosa entre o antibiótico e as

enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina. Administrou cloranfenicol através da via oral, e as enzimas proteolíticas foram administradas por via intramuscular simultaneamente, e comparou os resultados com os obtidos de pacientes que receberam cloranfenicol isoladamente. Os resultados mostraram que 89,7% dos casos foram qualificados como bons, quando o tratamento foi efetuado com a associação entre o cloranfenicol e as enzimas proteolíticas, e 79,5% foram classificados como bons quando tratados somente com cloranfenicol.

PECILE e colab. (1967), induziram tecido de granulação de Selye na região dorsal de ratos. Após seis dias, o tecido inflamatório já se encontrava desenvolvido, e a partir desta data, os animais receberam oralmente, de acordo com o grupo estabelecido, tetraciclina marcada. Em outro grupo, os animais receberam tetraciclina marcada, associada com as enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina. Os resultados mostraram, claramente, que a administração combinada de tetraciclina e enzimas proteolíticas forneceu níveis significativamente mais altos do antibiótico no plasma. Entretanto, as enzimas proteolíticas não interferiram na passagem do antibiótico para dentro do tecido de granulação.

GODOY JR. (1973), se propôs a estudar a influência de enzima proteolítica α - quimotripsina sobre a penetrabilidade de ampicilina trihidratada em tecido amigdalino, em humanos. Concluiu o autor, que o emprego conjunto de ampicilina e α -quimiotripsina, proporcionou:

- 1) níveis significantemente mais elevados de ampicilina no tecido amigdalino, 1 e 1 e 1/2 hora após administração oral;

- 2) "índices de penetrabilidade" de ampicilina no

tecido amigdalino, significativamente maiores nos horários de 1 hora e 1 hora e 1/2 após a administração.

REKKANDT (1977), estudou a atividade da oleandomicina, estreptomicina, neomicina, clortetraciclina, eritromicina, penicilina e polimixina, associadas à tripsina e à pepsina. As enzimas foram adicionadas ao antibiótico em solução tampão, na concentração de 1.000 UP/ml, à temperatura de 35°C. Solução sem enzimas proteolíticas foi usada como controle. A atividade do antibiótico foi determinada através da difusão em ágar. Os resultados mostraram que as enzimas não interferem na atividade antimicrobiana de quaisquer antibióticos estudados.

Outros pesquisadores como FUKUDA e colab. (1978), empregaram a associação de ampicilina com as enzimas proteolíticas α - quimotripsina e tripsina, no tratamento de 31 pacientes portadores de infecção otorrinolaringológica, através de administração oral. O tratamento, foi considerado eficaz em 61,3% dos pacientes e parcialmente eficaz em 35,5%, totalizando 96,8% de resultados favoráveis.

Fazendo uso de tetraciclina marcada com ^3H , EDWARDS e CALVERT (1980), estudaram a influência da administração aguda de tripsina e quimotripsina, na absorção de tetraciclina através do trato gastrointestinal, em ratos. Os autores concluíram que as enzimas proteolíticas não interferiram na absorção do antibiótico por esta via, como também na eliminação renal do mesmo.

FAROUK (1982), isolou cinco espécies de bactérias que individualmente foram incubadas em soluções salinas contendo tripsina e quimotripsina, em três diferentes concentrações, durante 1 hora. As enzimas proteolíticas mostraram ter

atividade bactericida mais sobre as bactérias gran-negativas do que sobre as gran-positivas e, ainda, uma atividade enzimática letal, dose dependente.

Em estudos realizados em 50 pacientes, sobre a disponibilidade sanguínea e em tecido amigdalino da ampicilina triídratada, administrada sob forma isolada e em combinação com as enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina, MENON e colab. (1986), concluem que tanto os níveis teciduais quanto plasmáticos do antibiótico usado, associado às enzimas, foram superiores ao do antibiótico isoladamente.

Com relação aos inibidores enzimáticos, já em 1897, CAMUS e GLEY, mostraram que o soro inibe a tripsina.

Pouco tempo depois, em 1900, LANDSTEINER mostrou que a tripsina era inibida por uma fração de albumina presente no soro humano.

Desde então, muitas investigações têm sido realizadas no sentido de se elucidar melhor a natureza da substância inibidora e suas concentrações no soro normal, e de pessoas doentes.

Fazendo uso do fracionamento eletroforético, em papel, JACOBSSON (1953), confirmou as hipóteses anteriores mostrando a existência de dois diferentes inibidores de tripsina no soro humano, sendo que um dos inibidores se move como α_1 e o outro se move como α_2 globulinas.

LASKOWSKI e LASKOWSKI; Jr. (1954), em um trabalho, onde os autores reúnem uma série de experimentos, com o objetivo de aumentar o nosso conhecimento sobre a ocorrência natural de inibidores da tripsina, descrevem que KUNITZ e NORTHROP (1936), já tinham observado que, inibidores pancreáticos de tripsina também inibiam a α - quimotripsina, e, ain-

da, que o complexo formado entre a α - quimotripsina e o inibidor da tripsina é altamente dissociável, quando comparado com o complexo formado entre a tripsina e a tripsina inibidora.

A dificuldade em se determinar, em valores absolutos, a quantidade de sôro que inibe uma determinada concentração de tripsina, levou HOMER e colab. (1960), a proporem um método para mensurar a capacidade do sôro em inibir a tripsina. O método proposto utiliza caseína marcada com ^{131}I , como substrato. A capacidade tripsina inibidora do sôro de 103 doadores de sangue, membros do pessoal de laboratório, mostrou que 0.87 mg de tripsina é inibida por 1 ml de sôro. E ainda, a capacidade de inibir a tripsina, é encontrada nos sôros de pacientes portadores de anomalias do pâncreas, principalmente. ROBINSON e colab. (1981), puderam medir a atividade inibidora da alfa-1-antitripsina e alfa-2-macroglobulinas, presentes na artrite reumatóide do joelho de pacientes. Nestes casos foram observados níveis de alfa-1-antitripsina e alfa-2-macroglobulina, no líquido sinovial, sensivelmente mais elevado nos pacientes portadores de inflamações das articulações, quando comparados com o grupo controle.

No campo de atuação da odontologia, as enzimas proteolíticas também aparecem com importância na terapêutica. Assim, fazendo uso da via oral, FEINMAN e colab. (1967) trataram com enzimas proteolíticas pancreáticas, pacientes submetidos a diferentes procedimentos cirúrgicos odontológicos, relatando os autores em seu trabalho, um significativo efeito antiinflamatório quando comparado com o grupo controle.

PEREIRA e PADOVAN (1968), comprovaram em seu trabalho, que a associação entre as enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina e o paracetamol foi mais eficiente que as

enzimas ou o paracetamol administrados isoladamente, em diferentes intervenções cirúrgicas odontológicas.

Em um outro tipo de associação medicamentosa, entre as enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina e o antibiótico tetraciclina, BORGIO (1970), demonstraram o inestimável valor profilático e terapêutico dessa associação medicamentosa.

Fazendo uso de uma mistura enzimática contendo tripsina, quimotripsina e ribonuclease, (Orenzyme - Forte), KIESER e colab. (1977), trataram macacos com pulpites induzidas experimentalmente. Comprovaram os autores, que o uso sistêmico da mistura enzimática produziu redução da inflamação nas pulpites experimentais, sugerindo o mesmo procedimento em humanos.

O tratamento de comprometimento periodontal - tanto agudo quanto crônico, foi também observado por CIUBOTARIU (1981), em pacientes tratados com a mistura enzimática tripsinae quimotripsina e antibiótico. Neste trabalho o autor relata os bons resultados obtidos neste tipo de tratamento.

CAPÍTULO II

1. PROPOSIÇÃO DO TRABALHO

Em função do exposto, pretendemos fazer uso das enzimas tripsina e alfa-quimotripsina e do paracetamol, administrados isoladamente e sob forma de associação em ratos, com os seguintes objetivos:

1) Observar em cortes histológicos, os possíveis e feitos que estas enzimas proteolíticas e o paracetamol possam exercer na organização e maturação do tecido de granulação;

2) Analisar através da histofotometria a possível influência que estes medicamentos exerceriam sobre a síntese - de mucopolissacarídeos ácidos (glicosaminoglicanas), durante a evolução do tecido de granulação.

CAPÍTULO III

1. MATERIAIS E MÉTODOS

1.1. MATERIAIS

1.1.1. ANIMAIS UTILIZADOS:

As experiências foram realizadas em oitenta (80) ratos (Rattus norvegicus - variedade albinus), da linhagem Wistar, machos, adultos jovens (120 dias), pesando entre 183 e 225 gramas.

Os animais foram escolhidos e, após desmama-dos, alimentados com ração balanceada marca Ceres, de composi-ção especial para criação de ratos, e receberam água "ad libi-tum".

Atingida a idade desejada, os animais foram submetidos aos procedimentos experimentais que objetivaram es-te trabalho, no Laboratório de Farmacologia da Faculdade de O-dontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas.

1.1.2. ESPONJAS DE PVC:

Foram recortados discos de esponjas de policlo-rovinil (PVC), a dimensões de: 3mm de altura X 5mm de diâme-tro, cada um deles.

1.1.3. DROGAS UTILIZADAS:

A) Parenzyme^R - Solução aquosa preparada a 316,92 UP de tripsina e 63,30 UP de alfa-quimotripsina por mililitro. Laboratório MERREL.

B) Parenzyme Analgésico^R - Solução aquosa pre-

parada a 316,92 UP de tripsina, 63,30 UP de alfa-quimiotripsina e 2,31 mg de paracetamol (n-acetil-aminofenol) por mililitro. Laboratório MERREL.

C) Eraldor^R - Solução aquosa preparada a 3,125 mg de paracetamol (n-acetil-aminofenol) por mililitro. Laboratório SCHERING S/A.

D) Éter sulfúrico. Miyako do Brasil, Indústria e Comércio Ltda.

E) Povidine - tintura 1%. Darrow Laboratórios S/A.

1.1.4. MATERIAL CIRÚRGICO:

O material cirúrgico utilizado foi o necessário para as operações de implante das esponjas de PVC e a retirada posterior dos tecidos de granulação.

1.2. MÉTODOS

1.2.1. OBTENÇÃO DO TECIDO DE GRANULAÇÃO:

O tecido de granulação foi obtido através do implante de pequenos discos, uniformes, de esponjas de PVC, no tecido subcutâneo, dorsal, de todos os animais utilizados.

1.2.2. IMPLANTE DAS ESPONJAS DE PVC:

Um disco de policlorovinil (PVC), esterilizado em autoclave, foi implantado, subcutaneamente, em cada um dos animais, da seguinte maneira:

Após anestesia com éter sulfúrico, a região dor

sal mediana traseira foi depilada, e em seguida praticou-se uma incisão de aproximadamente 1,0 cm, com o auxílio de uma tesoura ponta fina, paralelamente ao longo do eixo da coluna vertebral, e, com auxílio de uma tesoura ponta romba, procedeu-se a divulsão dos tecidos subcutâneos com a finalidade de introduzir a esponja de PVC.

A esponja foi introduzida com pinça apropriada, tão longe quanto possível do local da incisão, com o objetivo de se evitar que o processo de cicatrização da ferida provocada pela incisão, não interferisse no processo de formação do tecido de granulação, que a partir deste momento entraria em curso.

Uma vez implantada a esponja, a incisão foi suturada com dois pontos separados.

Todos estes procedimentos foram conduzidos sob rigorosas condições de assepsia.

1.2.3. ADMINISTRAÇÃO DE DROGAS:

Os animais tratados receberam as drogas por via intraperitoneal.

1.2.4. RETIRADA DOS TECIDOS DE GRANULAÇÃO APÓS O IMPLANTE, EM INTERVALOS DE TEMPO PRÉ-DETERMINADOS:

Após o implante das esponjas, os tecidos de granulação foram retirados nos períodos de cinco (5), dez (10), quatorze (14), vinte e um (21) e vinte e oito (28) dias de desenvolvimento, da seguinte maneira:

Para cada um dos períodos citados, dezesseis - (16) animais foram anestesiados com éter sulfúrico, e os tecidos

dos de granulação foram cuidadosamente retirados, colocados - sobre vidros de relógio e postos para resfriar. Após o resfriamento, com o auxílio de uma lâmina os tecidos foram cortados no sentido de seu diâmetro e, imediatamente após, mergulhados em solução de formol a 10%, tamponado, durante vinte e quatro (24) horas, à temperatura ambiente. Ao final deste procedimento os animais foram sacrificados através da inalação de éter sulfúrico.

1.2.5. COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA-EOSINA (H.E.):

Os tecidos de granulação após fixação em formol, foram diafanizados e incluídos em blocos de parafina.

As peças histopatológicas foram cortadas na espessura de sete (7) micra e, segundo a técnica de rotina, foram coradas com Hematoxilina-Eosina.

1.2.6. TÉCNICA HISTOFOTOMÉTRICA PARA ESTUDO DA SÍNTESE DE MUCOPOLISSACARÍDEOS ÁCIDOS (GLICOSAMINO GLICANAS) :

Utilizando-se os tecidos fixados e incluídos - em blocos de parafina, de acordo com o item (1.2.5) anterior, as peças histopatológicas foram cortadas novamente na espessura de sete (7) micra.

Com a finalidade de se obter uma evidenciação histoquímica dos compostos mucopolissacarídeos ácidos, foi empregada a técnica de Reação Metacromática do Azul de Toluidina, pH 4,0, segundo LISON (1960). Uma vez prontas, as lâminas foram montadas em meio sintético (Bálsamo do Canadá, CAEDAX , E. MERCK, DARMSTAD) e levadas ao histofotômetro (microscope - PHOTOMETER - ZEISS 01), utilizando-se a objetiva de quarenta

(40) aumentos e luz monocrática, com comprimento de onda de - quinhentos e quarenta (540) milimicrons, como indicado por PEARSE (1968).

Todos os pontos do tecido de granulação foram colocados sob medida, realizando-se um total de sessenta (60) medidas, em absorvância para cada lâmina examinada. Cada lâmina continha tecido de granulação de dois (2) animais e portanto, foram feitas trinta (30) leituras por animal de cada grupo, para cada dia do período de evolução do tecido de granulação.

Os valores médios destas medidas, por animal e por grupo, em cada período de estudo, foram submetidos a análise de variância com dois critérios de classificação, ou seja, drogas e períodos, e ao teste de Tukey.

2. SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

Os oitenta (80) animais utilizados após o implante das esponjas de PVC, foram separados em dois (2) grandes grupos: Grupo Controle, constituído de vinte (20) animais e o Grupo dos animais Tratados, constituído de sessenta (60) animais.

Os sessenta (60) animais pertencentes ao Grupo de animais Tratados, por sua vez, foram divididos em três grupos, cada um com vinte (20) animais, onde cada grupo recebeu drogas diferentes.

2.1. GRUPO CONTROLE

Os vinte (20) animais que constituíram este grupo, tiveram como característica, o não recebimento da droga, constituindo-se assim, em um Grupo Controle, o qual foi identificado com a sigla C.

Este grupo foi dividido em cinco (5) sub-grupos, da seguinte maneira:

2.1.1. SUB-GRUPO C-5:

Constituindo-se de quatro (4) animais, os quais, decorridos cinco (5) dias após implante da esponja, foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de Metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Este sub-grupo foi o parâmetro do desenvolvimento do tecido de granulação até o quinto (5º) dia após o implante.

2.1.2. SUB-GRUPO C-10:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, decorridos dez (10) dias após implante da esponja, tiveram seus tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas a reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Este sub-grupo foi o parâmetro do desenvolvimento do tecido de granulação até o décimo (10º) dia pós-implante.

2.1.3. SUB-GRUPO C-14:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, decorridos quatorze (14) dias após o implante da esponja, tiveram seus tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas a reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Este sub-grupo foi o parâmetro do desenvolvimento do tecido de granulação até o décimo quarto (14º) dia pós-implante.

2.1.4. SUB-GRUPO C-21:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, de corridos vinte e um (21) dias após o implante da esponja, tiveram seus tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Este sub-grupo foi o parâmetro do desenvolvimento do tecido de granulação até o vigésimo primeiro (21º) dia pós-implante.

2.1.5. SUB-GRUPO C-28:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, de corridos vinte e oito (28) dias após o implante da esponja, e tiveram os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Este sub-grupo foi o parâmetro do desenvolvimento do tecido de granulação até o vigésimo oitavo (28º) dia após o implante.

2.2. GRUPO DE ANIMAIS TRATADOS

Os sessenta (60) animais utilizados foram divididos em três (3) grupos, cada um dos quais com vinte (20) a-

normais.

O grupo de animais que recebeu Parenzyme Analgésico^R foi identificado com a sigla PA. O grupo de animais que recebeu Parenzyme^R foi identificado com a sigla P e o que recebeu Eraldor^R, foi identificado com a sigla ER.

2.2.1. GRUPO PA:

Os vinte (20) animais que constituíram este grupo, durante os tres (3) últimos dias do período de desenvolvimento do tecido de granulação, pré-determinado, onde cada animal, em cada administração intra peritoneal, recebeu 177,1 UP/Kg de peso de tripsina, 235 UP/Kg de peso de alfa -quimotripsina e 8,57 mg / Kg de peso de paracetamol (Parenzyme Analgésico^R), de oito (8) em oito (8) horas.

Este grupo de animais foi dividido em cinco (5) sub-grupos:

2.2.1.1. SUB-GRUPO PA-5:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do segundo (2º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas, até o quinto (5º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de Parenzyme Analgésico^R, intraperitonealmente.

No quinto (5º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao quinto (5º) dia após o implante.

2.2.1.2. SUB-GRUPO PA-10:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do sétimo (7º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o décimo (10º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de Parenzyme Analgésico^R, intraperitonealmente.

No décimo (10º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao décimo (10º) dia após o implante.

2.2.1.3. SUB-GRUPO PA-14:

Constituído de quatro (4) animais, os quais do décimo primeiro (11º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o décimo quarto (14º) dia de desenvolvimento do tecido de granu

lação, doses de Parenzyme Analgésico^R, intraperitonealmente.

No décimo quarto (14º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da sín^{te}se de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao décimo quarto (14º) dia após o implante.

2.2.1.4. SUB-GRUPO PA-21:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do décimo oitavo (18º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o vigésimo primeiro (21º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de Parenzyme Analgésico^R, intraperitonealmente.

No vigésimo primeiro (21º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da sín^{te}se de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos mor

fológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao vigésimo primeiro (21º) dia após o implante.

2.2.1.5. SUB-GRUPO PA-28:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do vigésimo quinto (25º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o vigésimo oitavo (28º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de Parenzyme Analgésico^R, intraperitonealmente.

No vigésimo oitavo (28º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao vigésimo oitavo (28º) dia após o implante.

2.2.2. GRUPO P:

Os vinte (20) animais que compõem este grupo, durante os tres (3) últimos dias do período de desenvolvimento do tecido de granulação, pré-determinado, onde cada animal, em cada administração intraperitoneal recebeu: 177,1 UP/ Kg de peso de tripsina e 235 UP/ Kg de peso de alfa quimotripsina (PARENZYME^R), de oito (8) em oito (8) horas.

Este grupo de animais foi dividido em cinco (5) sub-grupos:

2.2.2.1. SUB-GRUPO P-5:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do terceiro (3º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o quinto (5º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de Parenzyme^R, intraperitonealmente.

No quinto (5º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao quinto (5º) dia após o implante.

2.2.2.2. SUB-GRUPO P-10:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do sétimo (7º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o décimo (10º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de Parenzyme^R, intraperitonealmente.

No décimo (10º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados

para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao décimo (10º) dia após o implante.

2.2.2.3. SUB-GRUPO P-14:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, no décimo primeiro (11º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o décimo quarto (14º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de Parenzyme^R, intraperitonealmente.

No décimo quarto (14º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao décimo quarto (14º) dia após o implante.

2.2.2.4. SUB-GRUPO P-21:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, no décimo oitavo (18º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o vigésimo primeiro (21º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de Parenzyme^R, intraperitonealmente.

No vigésimo primeiro (21º) dia os animais eram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao vigésimo primeiro (21º) dia após o implante.

2.2.2.5. SUB-GRUPO P-28:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do vigésimo quinto (25º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas, até o vigésimo oitavo (28º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de Parenzyme^R, intraperitonealmente.

No vigésimo oitavo (28º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacroma-

sia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao vigésimo oitavo (28º) dia após o implante.

2.2.3. GRUPO ER:

Os vinte (20) animais que compõem este grupo, durante os três (3) últimos dias do período de desenvolvimento do tecido de granulação, pré-determinado, onde cada animal, em cada administração intraperitoneal, recebeu 14,3mg/kg de peso de paracetamol (ERALDOR^R) de oito (8) em oito (8) horas.

Este grupo de animais foi dividido em cinco (5) sub-grupos:

2.2.3.1. SUB-GRUPO ER-5:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do terceiro (3º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas, até o quinto (5º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de ERALDOR^R , intraperitonealmente.

No quinto (5º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da sín-

tese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao quinto (5º) dia após o implante.

2.2.3.2. SUB-GRUPO ER-10:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do sétimo (7º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas, até o décimo (10º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de ERALDOR^R, intraperitonealmente.

No décimo (10º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao décimo (10º) dia após o implante.

2.2.3.3. SUB-GRUPO ER-14:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do décimo primeiro (11º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o

décimo quarto (14º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de ERALDOR^R, intraperitonealmente.

No décimo quarto (14º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao décimo quarto (14º) dia após o implante.

2.2.3.4. SUB-GRUPO ER-21:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, no décimo oitavo (18º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o vigésimo primeiro (21º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de ERALDOR^R, intraperitonealmente.

No vigésimo primeiro (21º) dia, os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

2.2.3.5. SUB-GRUPO ER-28:

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do vigésimo quinto (25º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas, até o vigésimo oitavo (28º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de ERALDOR^R, intraperitonealmente.

No vigésimo oitavo (28º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

Os resultados histofotométricos fornecidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao vigésimo oitavo (28º) dia após o implante.

CAPÍTULO IV

1. RESULTADOS

1.1. COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA-EOSINA

Após o implante da esponja de PVC, o tecido envolvido respondeu ao estímulo do corpo estranho, com fenômenos proliferativos. Caracteristicamente o que se observa é uma proliferação de fibroblastos, deposição de substância intercelular e vasos que se arranjam ao redor da área injuriada.

A partir da cápsula fibrosa os elementos celulares migram para o interior da esponja, através de seus póros, iniciando um processo de proliferação, que visa ocupar os espaços vazios.

A sequência do desenvolvimento dos tecidos de granulação nos dias pré-estabelecidos, dentro dos diferentes grupos de animais, controle e tratados, foi a seguinte:

05 DIAS:

Tomando por referência o tecido que não sofreu interferência de agentes medicamentosos (grupo Controle), verificamos a cápsula fibrosa, delineando de forma tênue, porém envolvente, todo o perímetro ocupado pela esponja. Em algumas áreas da cápsula fibrosa, o tecido de granulação incipiente começa a se infiltrar pelos póros da esponja. Fibroblastos jovens acompanham o mesmo trajeto da cápsula fibrosa. Poucos vasos sanguíneos são vistos e o aspecto de maior realce é a própria esponja com sua trama ainda pouco invadida por tecido intercelular.

No tecido de granulação de animais tratados com Parenzyme Analgésico^R, observa-se um aspecto menos ordenado

do tecido incipiente, comparando-se com o tecido de granulação dos animais controle, e a cápsula fibrosa se mostra, em alguns locais, descontínua; a esponja apresenta uma trama tênue de elementos celulares e substância intercelular amorfa.

O tecido de granulação de animais tratados com Parenzyme^R, apresenta um aspecto desorganizado do tecido e, semelhantemente ao tecido de granulação dos animais tratados com Parenzyme Analgésico^R, pode-se notar a descontinuidade da cápsula fibrosa.

No tecido de granulação de animais tratados com Eraldor^R, identifica-se um aspecto mais organizado que os tecidos dos animais tratados com Parenzyme Analgésico^R e Parenzyme^R, assemelhando-se muito em celularidade (fibroblastos jovens em sua maioria), e tecido intercelular amorfo ao tecido de granulação dos animais do grupo controle. A cápsula fibrosa envolvente é delineada, porém é menor a quantidade de fibras colágenas presentes neste tecido, quando comparado com os animais do grupo controle.

Os aspectos gerais dos tecidos dos grupos acima descritos podem ser observados na Figura 1.

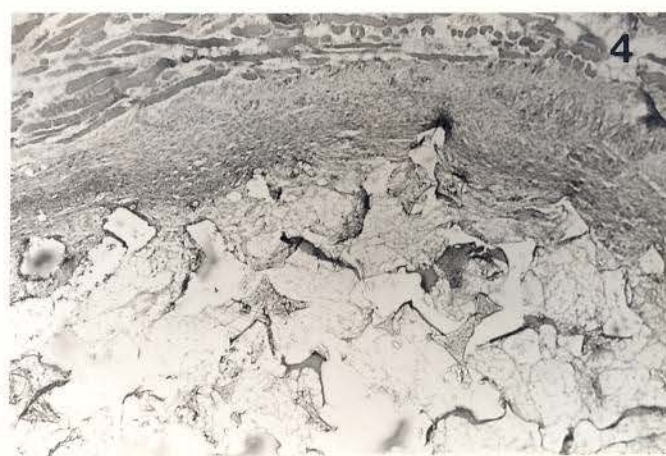
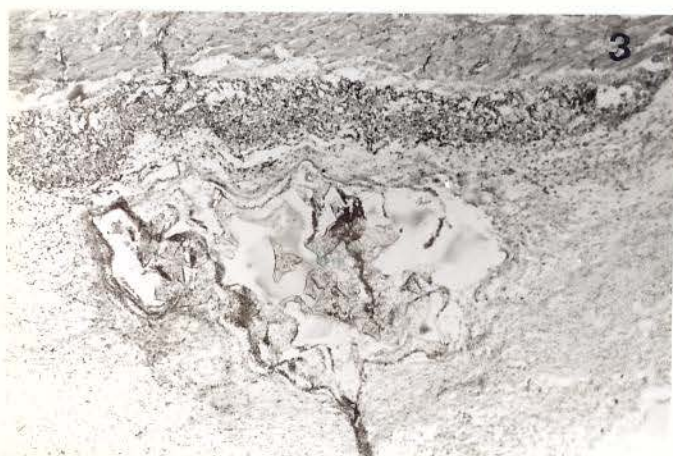
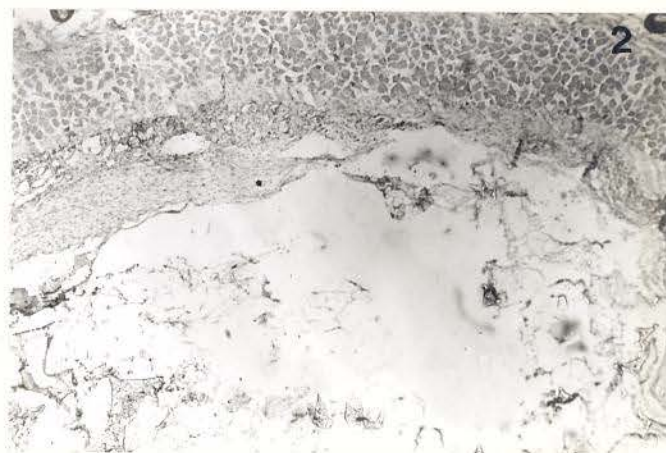


FIGURA 1 - Microfotografias dos tecidos de granulação obtidas dos diferentes grupos de animais, aos 05 dias de desenvolvimento (aumento original: 2,5 x 1,25 x 10): 1) Grupo Controle, 2) Grupo Parenzyme Analgésico^R, 3) Grupo Parenzyme^R, 4) Grupo Eraldor^R.

10 DIAS:

Observa-se no tecido de granulação dos animais controle, o aumento de substância intercelular fibrosa e fibroblastos jovens ocupando todo o tecido de granulação. O aspecto de um tecido relativamente organizado, embora em pequena quantidade é claro. Nota-se também que a trama da esponja agora é preenchida por fibras colágenas, vasos neoformados e células mesenquimais que aparecem em vários locais do tecido. A cápsula fibrosa envolvente é bem evidenciada.

Correspondente ao tecido de granulação dos animais tratados com Parenzyme Analgésico^R, observa-se a escassez de tecido intercelular e células no interior da trama da esponja de PVC. A cápsula fibrosa, que aparece circundando o tecido, possui aspecto frágil e, em alguns pontos do seu trajeto, parece ser descontínua. Poucos vasos sanguíneos neoformados são vistos nesse tecido. Numa vista geral, em pequeno aumento, denota-se um atraso no desenvolvimento deste tecido, em comparação com o grupo controle.

Correspondente ao tecido de granulação dos animais tratados com Parenzyme^R, o que se observa é um atraso no desenvolvimento deste tecido de granulação, caracterizado pela escassa quantidade de tecido intercelular amorfo, e número de células, no caso fibroblastos, no interior da esponja. Poucos vasos sanguíneos são vistos neste tecido em comparação com o grupo controle. A cápsula fibrosa possui também um aspecto de fragilidade.

Correspondente ao tecido de granulação dos animais tratados com Eraldor^R, observamos que fibras colágenas e fibroblastos não preencheram a trama da esponja de PVC. A cápsula fibrosa circunda de forma regular todo o tecido, porém a

quantidade de colágeno no interior da esponja é menor em comparação com o tecido de granulação dos animais controle. Vasos sanguíneos em pequena quantidade aparecem no tecido. O aspecto geral é um atraso no desenvolvimento do tecido de granulação neste estágio, quando comparado ao controle.

Os aspectos gerais dos tecidos dos grupos acima descritos podem ser observados na figura 2.

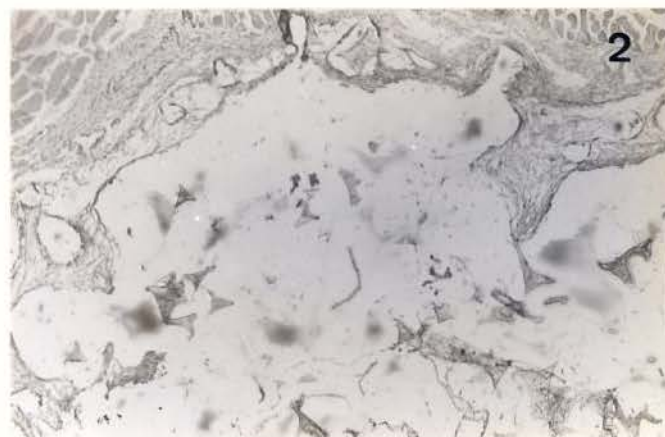


FIGURA 2 - Microfotografias dos tecidos de granulação obtidas dos diferentes grupos de animais, aos 10 dias de desenvolvimento (aumento original: 2,5 x 1,25 x 10): 1) Grupo Controle, 2) Grupo Parenzyme Analgésico^R, 3) Grupo Parenzyme^R, 4) Grupo Eraldor^R.

14 DIAS:

Tomando-se por referência o tecido de granulação dos animais tratados, e observando-se os tecidos dos animais tratados com Parenzyme, Parenzyme Analgésico^R e Eraldor^R, pode-se verificar que, em função da quantidade de substância intercelular, fibroblastos e vasos sanguíneos, o tecido de granulação do grupo controle apresenta-se desenvolvido e organizado.

Neste mesmo tecido, a cápsula fibrosa é definida e desenvolvida.

Comparando-se os tecidos de granulação dos animais tratados entre si, verificamos que o fibrosamento do tecido encontra-se mais desenvolvido no grupo dos animais tratados com Eraldor^R.

Os aspectos gerais dos tecidos dos grupos acima descritos podem ser observados na figura 3.

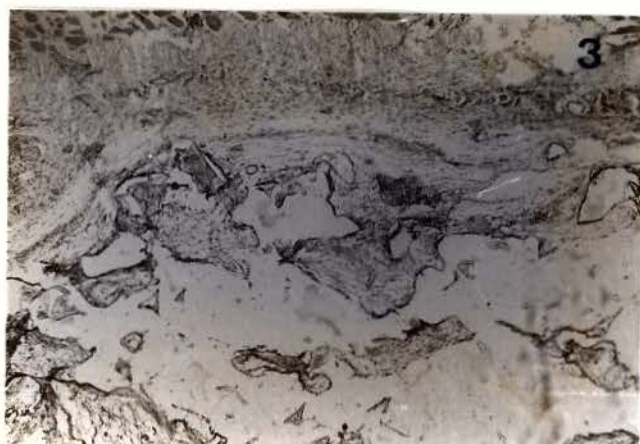


FIGURA 3 - Microfotografias dos tecidos de granulação obtidas dos diferentes grupos de animais, aos 14 dias de desenvolvimento (aumento original: 2,5 x 1,25 x 10): 1) Grupo Controle, 2) Grupo Parenzyme Analgésico^R, 3) Grupo Parenzyme^R, 4) Grupo Eraldor^R.

21 DIAS:

Neste período de desenvolvimento, nas lâminas de todos os grupos, verifica-se que a quantidade de fibras colágenas aumentou, comparada com o período de 14 dias, porém nota-se uma diminuição de elementos celulares (fibroblastos), indicando, portanto, uma maturação do tecido de granulação, entre os grupos, de maneira similar.

Neste período, observa-se que todos os poros (espaços) da esponja se encontram repletos de fibras colágenas direcionadas e vasos sanguíneos com circulação evidente.

Os aspectos gerais dos tecidos dos grupos acima descritos podem ser observados na figura 4.

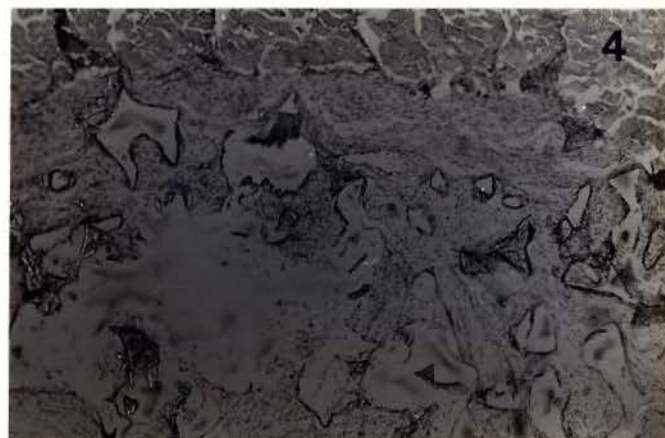


FIGURA 4 - Microfotografias dos tecidos de granulação obtidas dos diferentes grupos de animais, aos 21 dias de desenvolvimento (aumento original: 2,5 x 1,25 x 10): 1) Grupo Controle, 2) Grupo Parenzyme Analgésico^R, 3) Grupo Parenzyme^R, 4) Grupo Eraldor^R.

28 DIAS:

Os tecidos de granulação obtidos no 28º dia após o implante das esponjas de PVC, nos animais controle e tratados, mostram que os tecidos de granulação se encontram completamente maduros e desenvolvidos.

Os feixes de fibras colágenas aparecem ocupando todos os espaços entre as esponjas, notando-se também que neste período a celularidade reduz-se bruscamente, e como no período de 21 dias, há ausência de vasos neoformados. Em termos de desenvolvimento, não se distingue entre os tecidos, ou seja, os tecidos de granulação dos animais que receberam Parenzyme Analgésico^R, Parenzyme^R e Eraldor^R e o tecido de granulação do grupo Controle, não apresentam diferenças significativas.

Os aspectos gerais dos tecidos dos grupos acima descritos podem ser observados na figura 5.



FIGURA 5 - Microfotografias dos tecidos de granulação obtidas dos diferentes grupos de animais, aos 28 dias de desenvolvimento (aumento original: 2,5 x 1,25 x 10): 1) Grupo Controle, 2) Grupo Parenzyme Analgésico^R, 3) Grupo Parenzyme^R, 4) Grupo Eraldor^R.

1.2. TÉCNICA HISTOFOTOMÉTRICA PARA ESTUDO DA SÍNTESE DE MU
COPOLISSACARÍDEOS ÁCIDOS (GLICOSAMINOGLICANAS): ANÁLISE
ESTATÍSTICA.

As medidas de absorvância realizadas com auxílio do histofotômetro, obtidas das lâminas dos tecidos de granulação em diferentes períodos de desenvolvimento, encontram-se no Apêndice deste trabalho.

Os valores médios destas medidas, por animal e por grupo, em cada período, estão apresentados na tabela 1.

TABELA 1 - Valores médios de medidas histofotométricas, expressas em absorvância, relativas às lâminas histopatológicas dos ratos, de diferentes grupos em diferentes períodos de desenvolvimento do tecido de granulação.

PERÍODO DIAS	ANIMAL	CONTROLE	T R A T A D O S		
			PARENZYME ^R	PARENZYME ANALGÉSICO ^R	ERALDOR ^R
05	01	0,048	0,045	0,047	0,033
	02	0,046	0,035	0,051	0,032
	03	0,048	0,032	0,054	0,032
	04	0,046	0,036	0,051	0,031
10	01	0,105	0,066	0,039	0,053
	02	0,089	0,070	0,035	0,056
	03	0,095	0,064	0,034	0,055
	04	0,099	0,065	0,036	0,059
14	01	0,042	0,037	0,046	0,061
	02	0,042	0,042	0,046	0,054
	03	0,041	0,035	0,046	0,062
	04	0,042	0,048	0,045	0,054
21	01	0,023	0,027	0,026	0,027
	02	0,028	0,024	0,022	0,028
	03	0,032	0,023	0,020	0,026
	04	0,028	0,023	0,019	0,026
28	01	0,012	0,014	0,011	0,012
	02	0,013	0,013	0,011	0,012
	03	0,012	0,012	0,009	0,011
	04	0,012	0,011	0,010	0,011

Os dados apresentados na tabela 1, foram submetidos a uma Análise de Variância utilizando-se dois critérios de classificação, ou seja, GRUPOS: Controle e Tratados com ad

ministração de drogas e PERÍODOS de desenvolvimento do tecido de granulação, após o implante das esponjas de PVC.

Os resultados dessa Análise encontram-se na tabela 2.

TABELA 2 - Análise de variância.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F
GRUPOS (G)	3	0,001651	0,000550	57,76**
PERÍODOS (P)	4	0,025681	0,006420	674,03**
INTERAÇÃO G x P	12	0,007923	0,000660	69,32**
RESÍDUO	60	0,000572	0,000010	
TOTAL	79	0,035826		

Os asterísticos (**), indicam significância ao nível de 1%.

A Análise de Variância mostrou que existe diferença entre os valores médios das medidas histofotométricas, expressas sob forma de Absorvância, realizadas nas lâminas histopatológicas dos tecidos de granulação de animais dos diversos grupos examinados em períodos diferentes, pois todos os valores de F são significantes ao nível de 1%.

Foram então calculadas as médias das medidas histofotométricas para cada grupo em cada período de experimento. Essas médias encontram-se na tabela 3.

TABELA 3 - Médias das medidas histofotométricas, em absorvância, relativas às lâminas histopatológicas, para cada droga utilizada e em cada período do experimento.

PERÍODO DIAS	CONTROLE	D R O G A S		
		PARENZYME ^R	PARENZYME ANALGÉSICO ^R	ERALDOR ^R
05	0,0470	0,0370	0,0512	0,0320
10	0,0970	0,0662	0,0360	0,0558
14	0,0418	0,0405	0,0458	0,0578
21	0,0280	0,0242	0,0218	0,0268
28	0,0125	0,0125	0,0102	0,0115

Diferença mínima significante = 0,0076.

As médias apresentadas na tabela 3 foram submetidas ao Teste de Tukey. Analisando-se inicialmente cada grupo de animais, este teste mostrou que:

A) ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE (GRUPO C) - (Gráfico 1)

1) Os animais controle sacrificados aos cinco (5) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais controle sacrificados no 21º dia e 28º dia após o implante.

2) Os animais controle sacrificados aos dez (10)

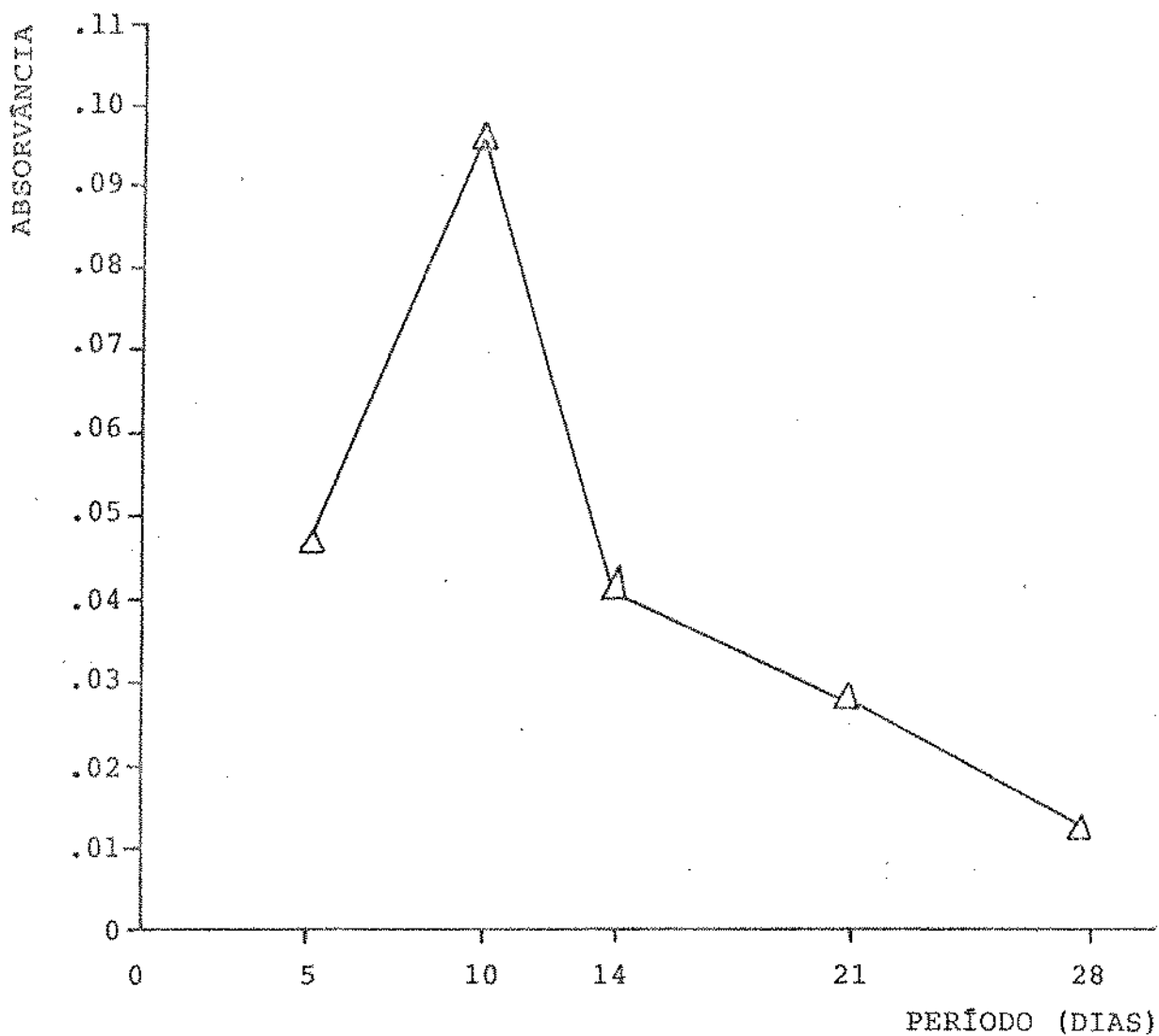


GRÁFICO 1: Curvograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, em função do período de sacrifício, dos animais do grupo Controle.

dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais controle sacrificados no 5º, 14º, 21º e 28º dia após o implante.

3) Os animais controle sacrificados aos quatorze (14) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais controle sacrificados no 21º e 28º dia após o implante.

4) Os animais controle sacrificados aos vinte e um (21) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais controle sacrificados 28º dia após o implante.

B) ANIMAIS TRATADOS COM PARENZYME^R (GRUPO P) - (Gráfico 2)

1) Os animais tratados sacrificados aos cinco (5) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados, sacrificados no 21º e 28º dia após o implante.

2) Os animais tratados sacrificados aos dez (10) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que

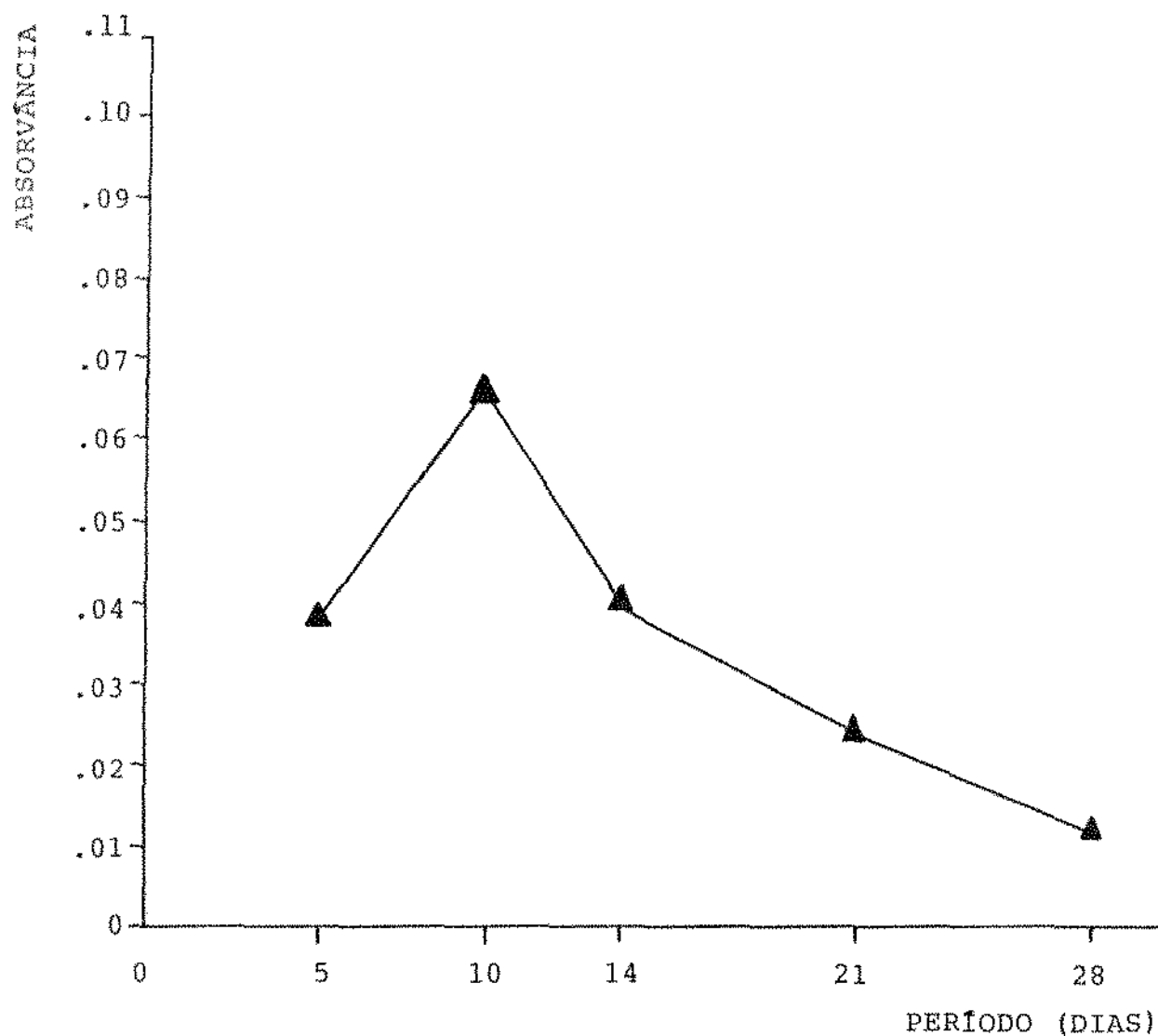


GRÁFICO 2: Curvograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, em função do período de sacrifício, dos animais do grupo Parenzyme^R.

a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados, sacrificados no 5º, 14º, 21º e 28º dia após o implante.

3) Os animais tratados sacrificados aos quatorze (14) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados, sacrificados no 21º e 28º dia após o implante.

4) Os animais tratados sacrificados aos vinte e um (21) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados, sacrificados no 28º dia após o implante.

C) ANIMAIS TRATADOS COM PARENZYME ANALGÉSICO^R (GRUPO PA) (Gráfico 3)

1) Os animais tratados e sacrificados aos cinco (5) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados, sacrificados no 10º, 21º e 28º dia após o implante.

2) Os animais tratados e sacrificados aos dez (10) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados, sacrificados no 21º e 28º dia após

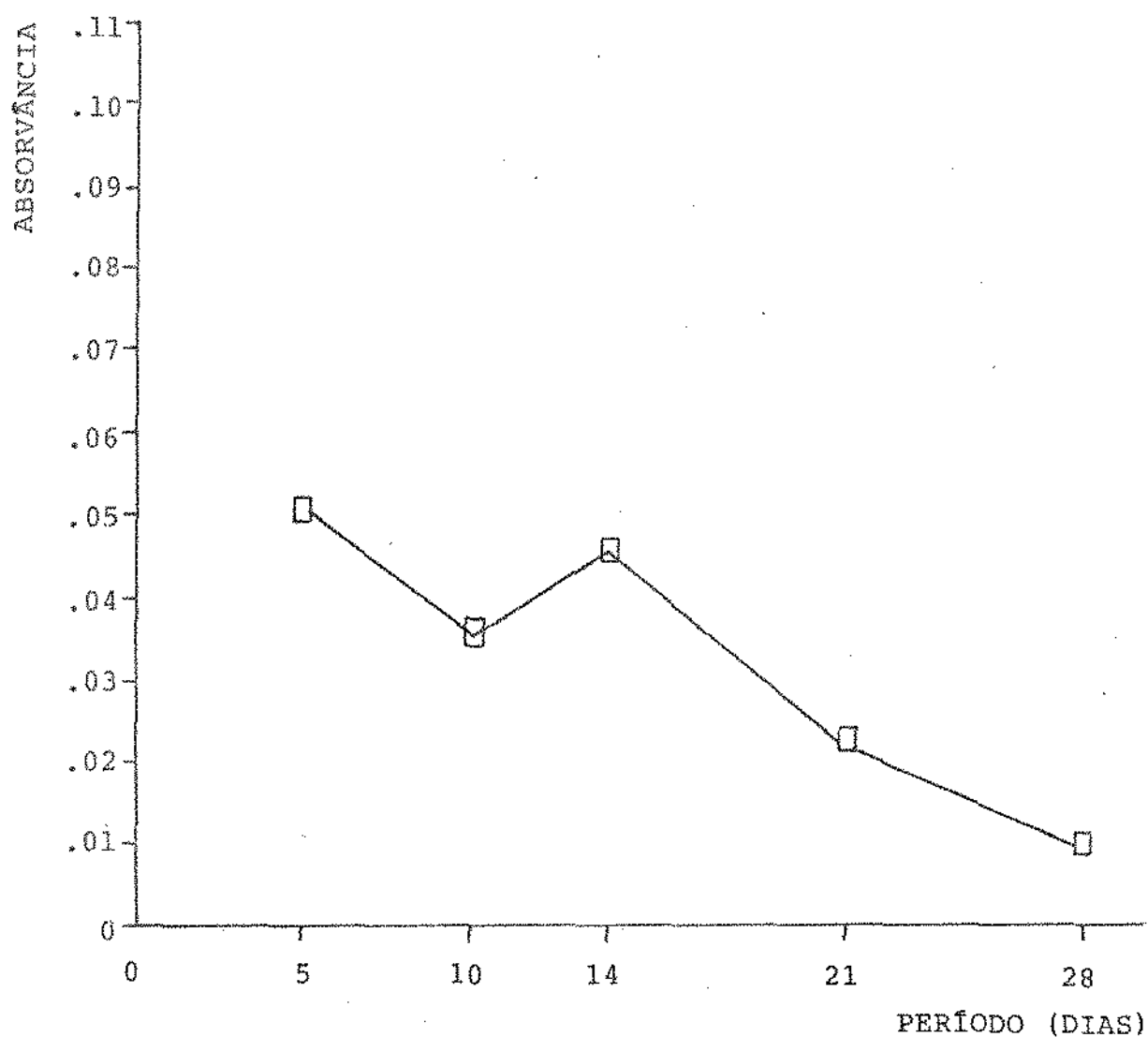


GRÁFICO 3: Curvograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, em função do período de sacrifício, dos animais do grupo Parenzyme Analgésico^R.

o implante.

3) Os animais tratados e sacrificados aos quatorze (14) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação maiores que as médias das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados e sacrificados no 21º e 28º dia após o implante.

4) Os animais tratados e sacrificados aos vinte e um (21) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados, sacrificados no 28º dia após o implante.

D) ANIMAIS TRATADOS COM ERALDOR^R (GRUPO ER) - (Gráfico 4)

1) Os animais tratados e sacrificados aos cinco (5) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados, sacrificados no 28º dia após o implante.

2) Os animais tratados e sacrificados aos dez (10) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados, sacrificados no 5º, 21º e 28º dia após o implante.

3) Os animais tratados e sacrificados aos quatorze (14) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados, sacrificados no 5º, 21º e 28º dia após o implante.

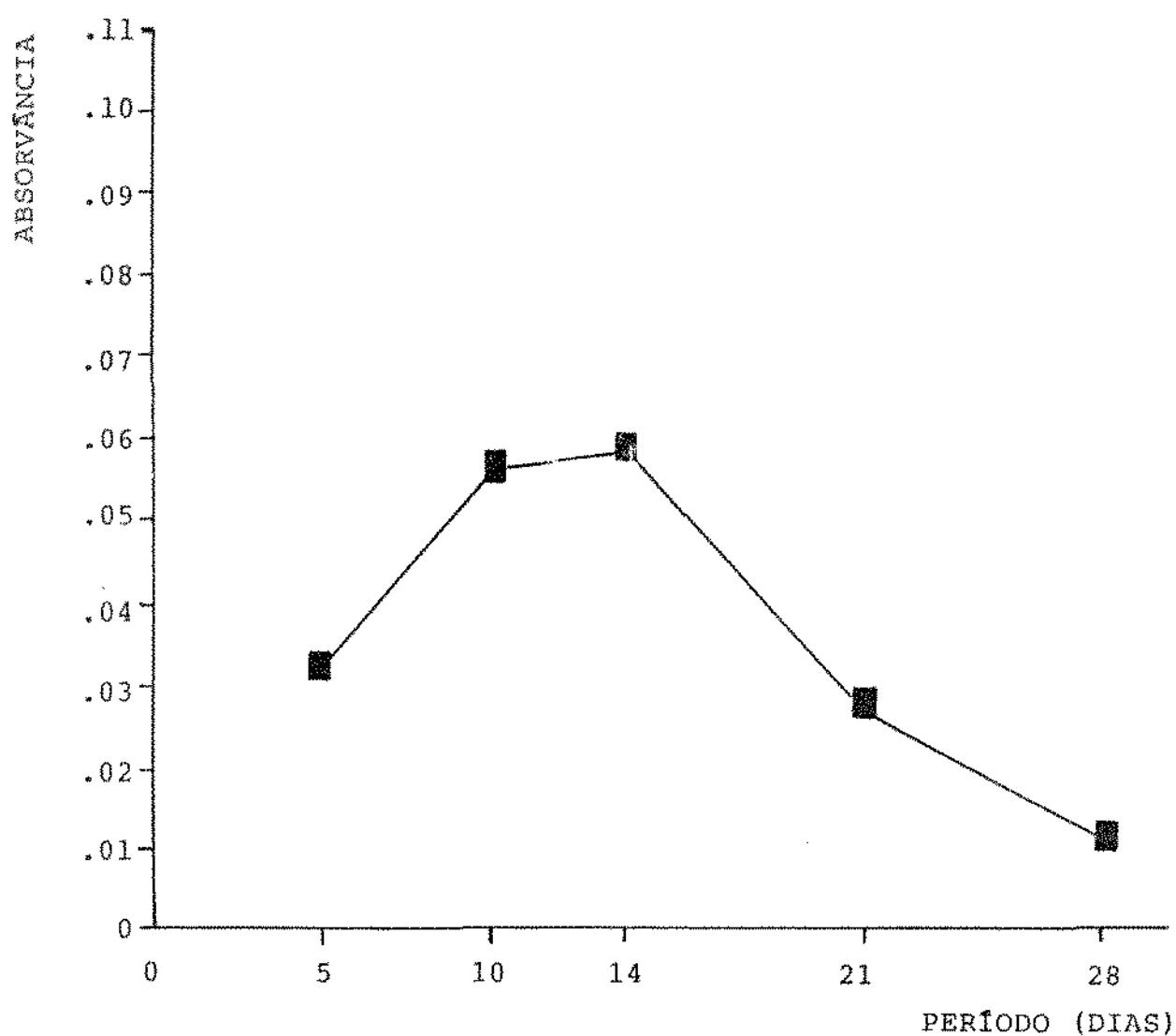


GRÁFICO 4: Curvograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, em função do período de sacrifício, dos animais do grupo Eraldor^R.

4) Os animais tratados e sacrificados aos vinte e um (21) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais tratados, sacrificados no 28º dia após o implante.

Finalmente, analisando-se os diferentes grupos entre si, agrupando-os por período de sacrifício, o teste de Tukey mostrou que:

A) NO 5º DIA APÓS IMPLANTE - (Gráfico 5)

1) Neste período, os tecidos de granulação dos animais do grupo Controle apresentaram a média das medidas histofotométricas significativamente maior que a média das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais tratados, dos grupos Parenzyme^R e Eraldor^R.

2) Os tecidos de granulação dos animais tratados com Parenzyme Analgésico^R apresentaram a média das medidas histofotométricas significativamente maior que a média das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais tratados do grupo Parenzyme^R e animais do grupo Eraldor^R.

B) NO 10º DIA APÓS IMPLANTE - (Gráfico 6)

1) Neste período, os tecidos de granulação dos animais do grupo Controle apresentaram a média das medidas histofotométricas significativamente maior que a média das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos a

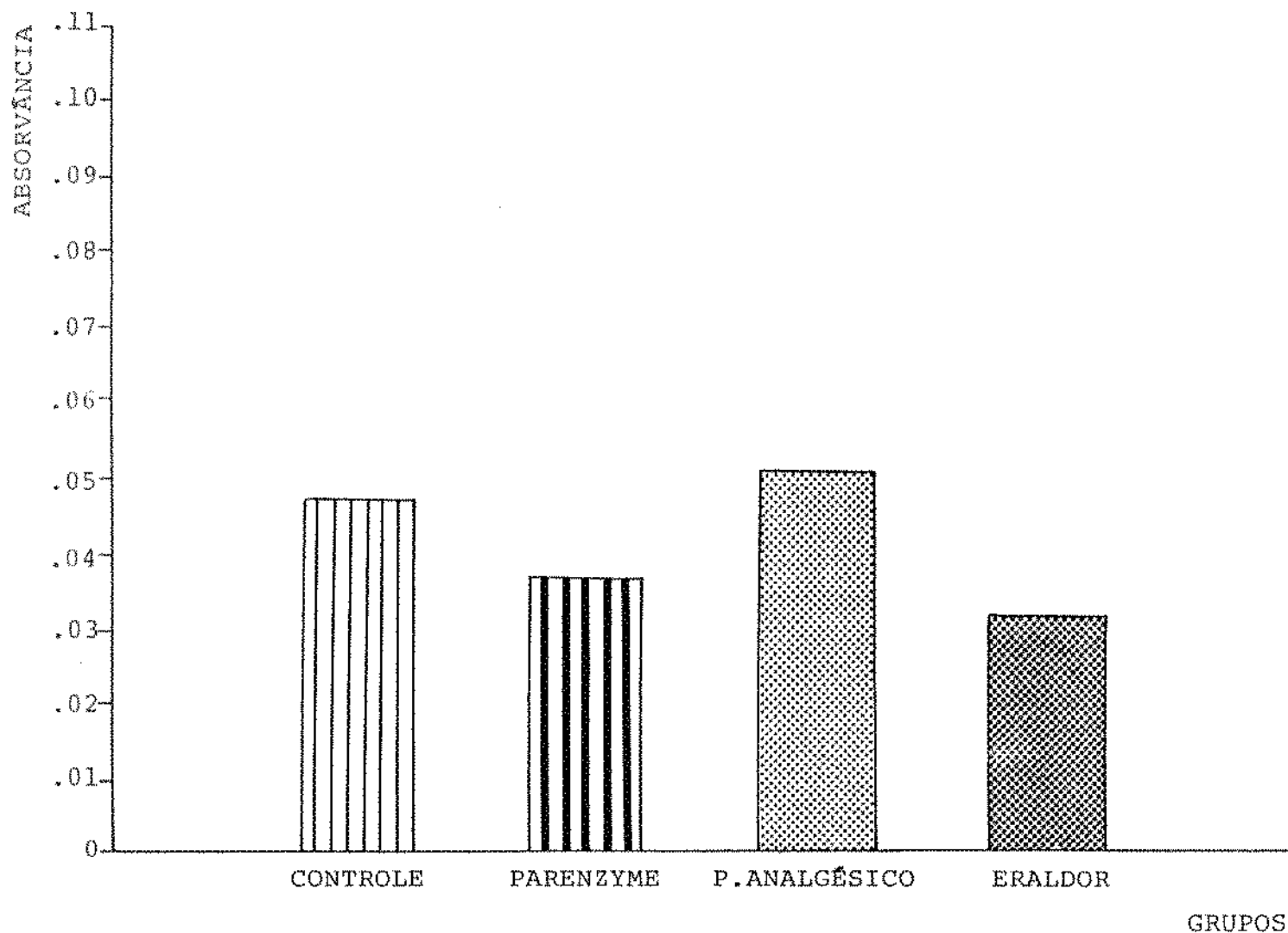


GRÁFICO 5: Histograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, e os grupos de animais: controle e tratados, no 52 dia de desenvolvimento do tecido de granulação.

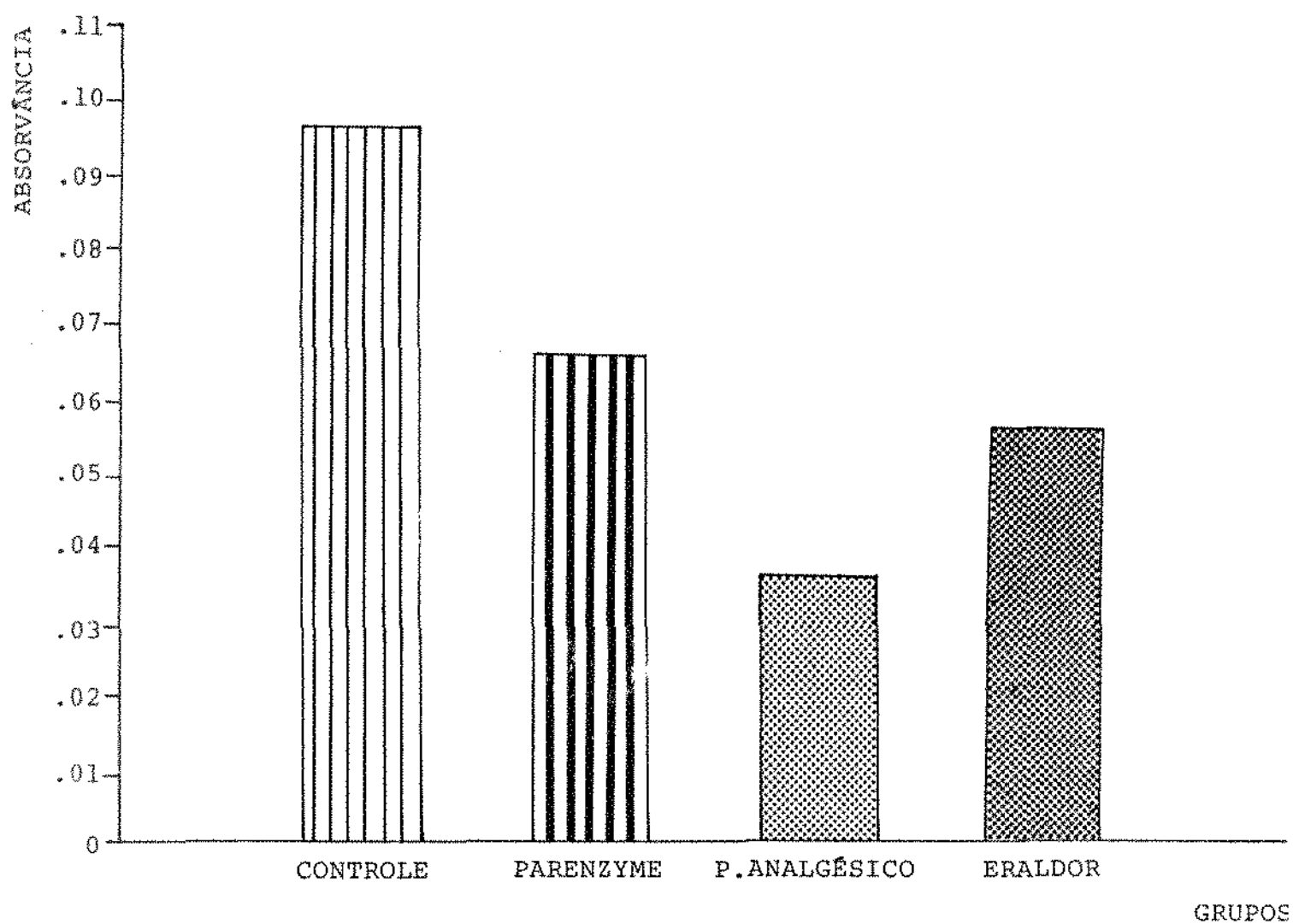


GRÁFICO 6: Histograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, e os grupos de animais: controle e tratados, no 10º dia de desenvolvimento do tecido de granulação.

animais tratados, dos grupos Parenzyme Analgésico^R, Eraldor^R e Parenzyme^R.

2) Os tecidos de granulação dos animais tratados com Parenzyme^R apresentaram a média das medidas histofotométricas significativamente maior que a média das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais tratados, dos grupos Parenzyme Analgésico^R e Eraldor^R.

3) Os tecidos de granulação dos animais tratados com Eraldor^R apresentaram a média das medidas histofotométricas significativamente maior que a média das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais tratados com Parenzyme Analgésico^R.

C) NO 14º DIA APÓS IMPLANTE - (Gráfico 7)

Podemos observar neste período que, os tecidos de granulação dos animais que receberam Eraldor^R apresentaram a média das medidas histofotométricas significativamente maior que a média das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais tratados com Parenzyme^R e Parenzyme Analgésico^R e os animais do grupo Controle.

D) Para os períodos de 21º e 28º dias após implante, não se observou diferenças significantes entre os grupos de animais tratados e controle entre si (Gráficos 8 e 9).

Com a finalidade de melhor visualizar em conjunto as observações oriundas da Análise Estatística efetuada, relativas às medidas histofotométricas da síntese de mucopolissacarídeos ácidos (glicosaminoglicanas), presentes nos tecidos

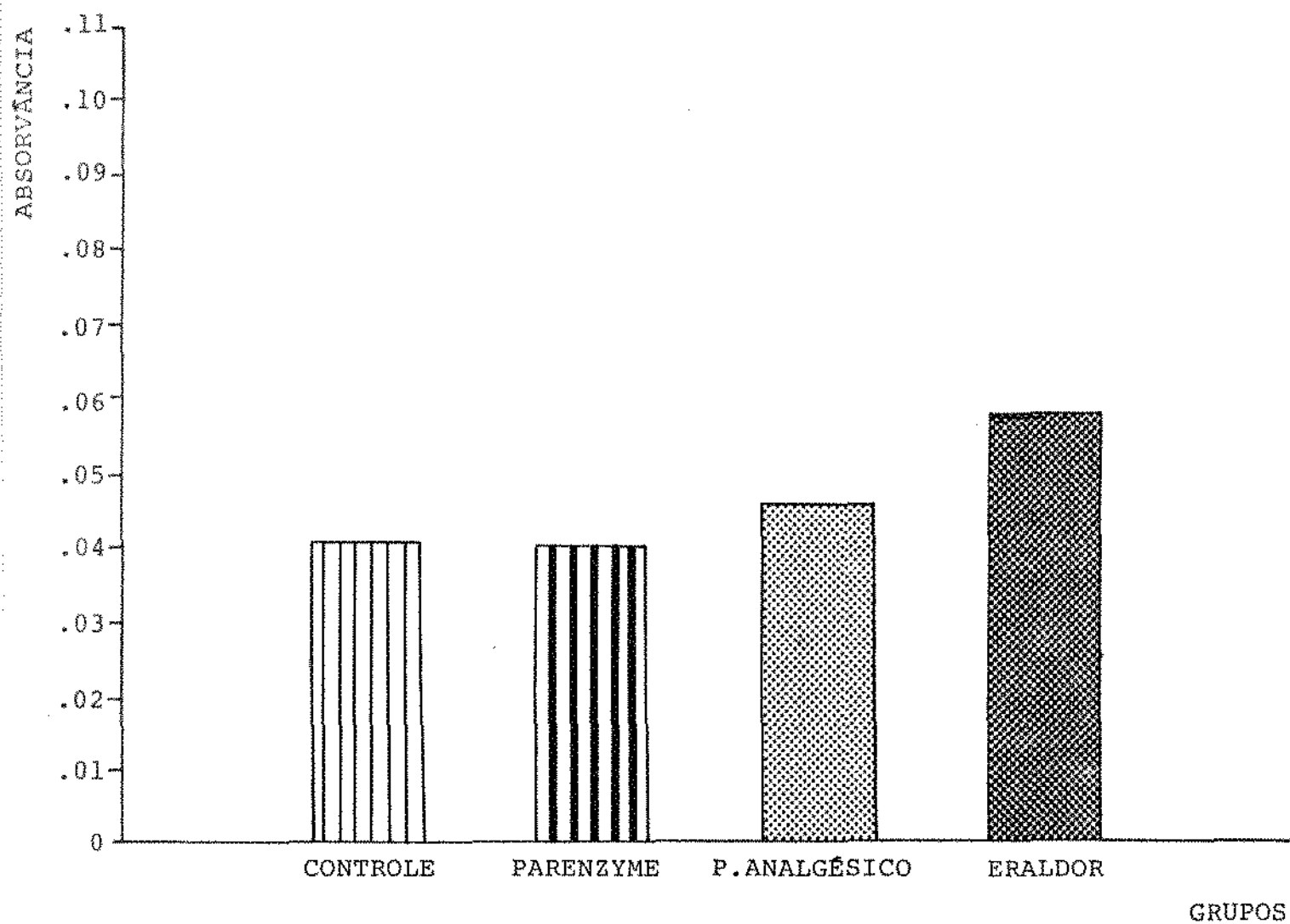


GRÁFICO 7: Histograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, e os grupos de animais: controle e tratados, no 14º dia de desenvolvimento do tecido de granulação.

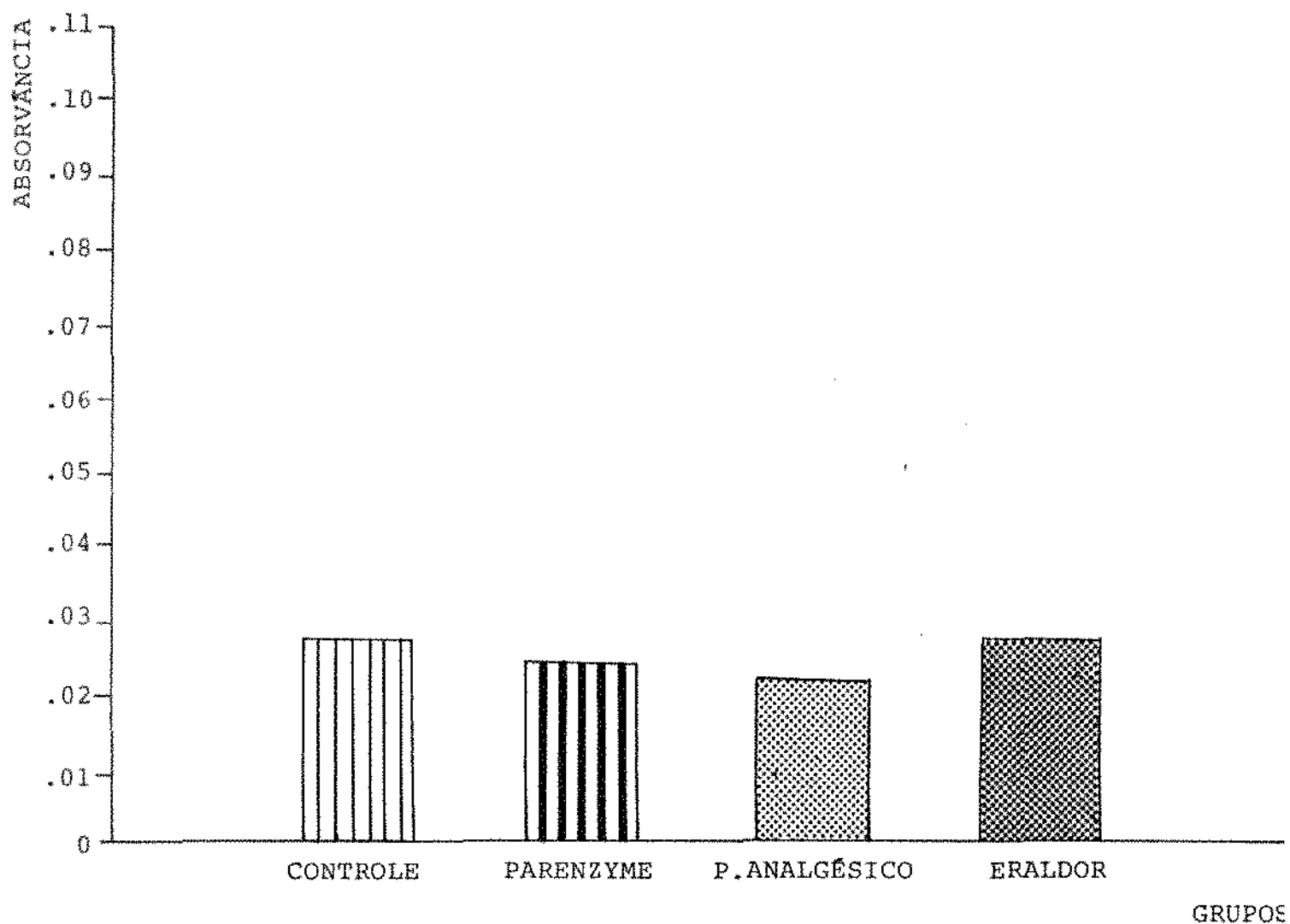


GRÁFICO 8: Histograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, e os grupos de animais: controle e tratados, no 21º dia de desenvolvimento do tecido de granulação.

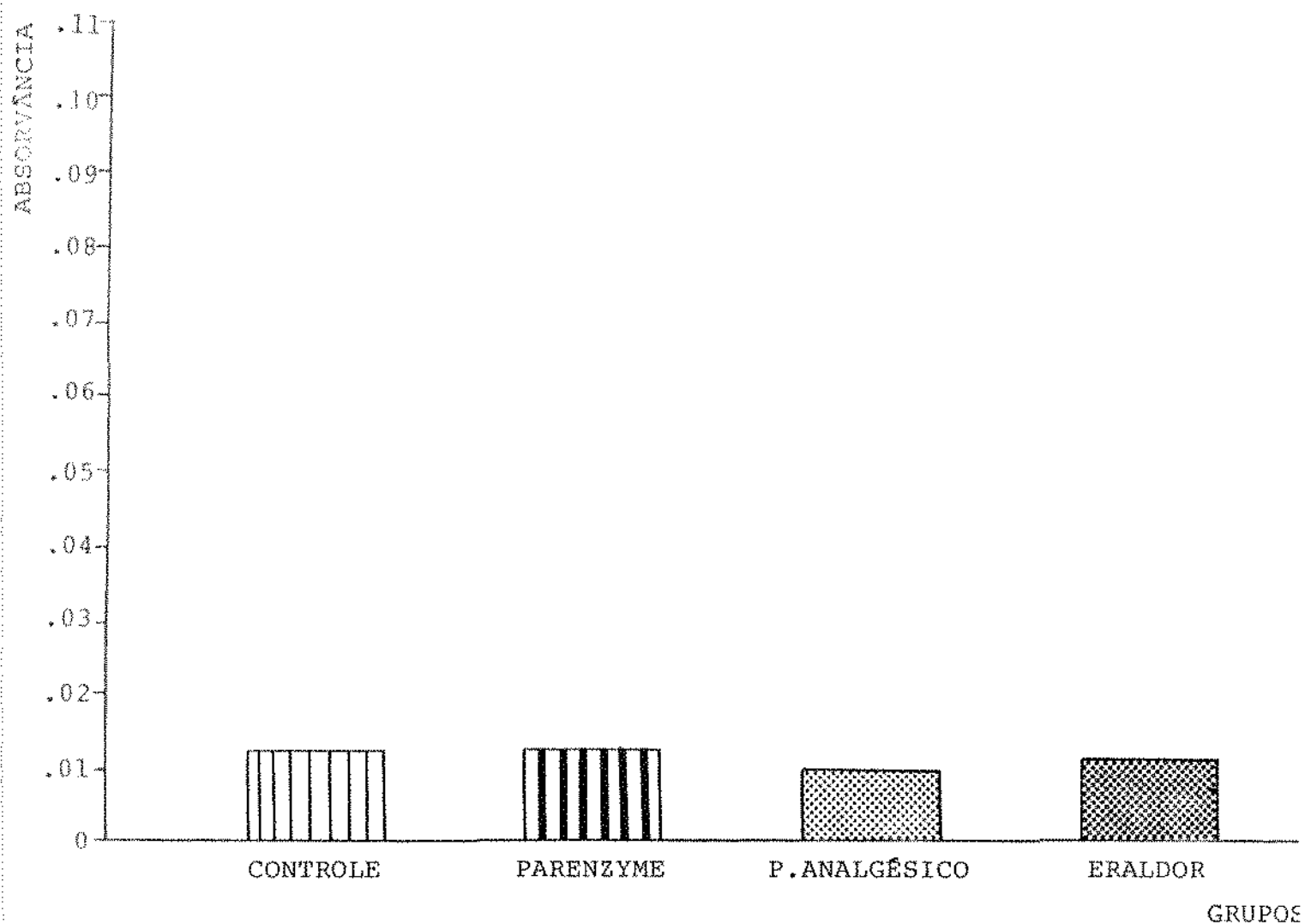


GRÁFICO 9: Histograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, e os grupos de animais: controle e tratados, no 28º dia de desenvolvimento do tecido de granulação.

de granulação dos animais controle e dos animais que foram submetidos a diferentes drogas e examinados em diferentes períodos de desenvolvimento, traçou-se um Curvograma (gráfico 10), onde se relacionou os valores médios entre animais (Tabela 3), das medidas expressas em Absorvância em função do Tempo de Sacrifício em dias.

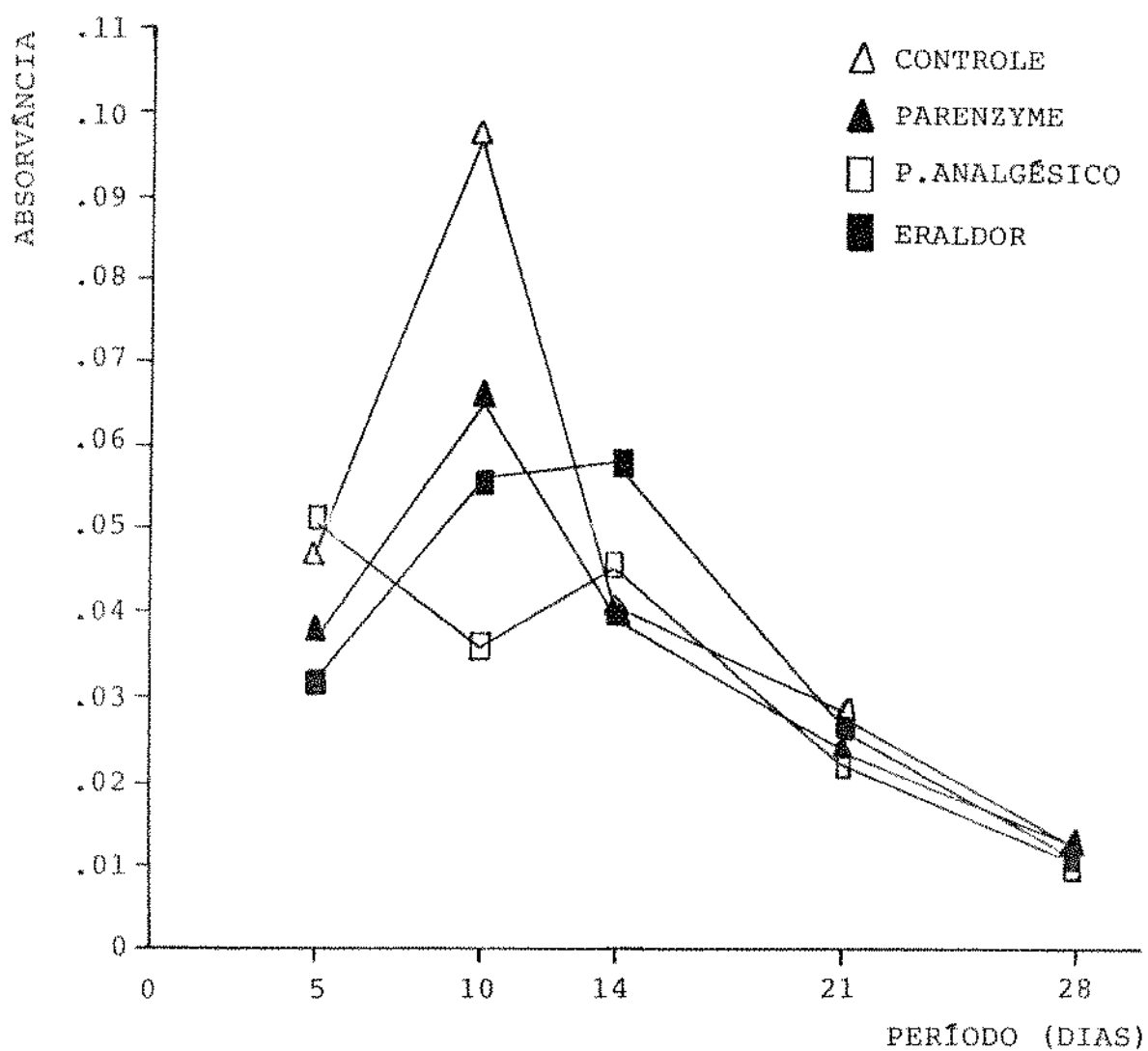


GRÁFICO 10: Curvograma relacionando as médias das medi-
das histofotométricas, em absorvância de
luz, e os grupos de animais: controle e tra-
tados, em função do período de sacrifício.

CAPÍTULO V

1. DISCUSSÃO

A revista da bibliografia sobre os antiinflamatórios enzimáticos nos forneceu um grande número de trabalhos de cunho clínico, envolvendo o tratamento de diferentes enfermidades de origem inflamatória.

Porém, bem poucos tratam deste assunto no que tange a ação dos antiinflamatórios enzimáticos sobre o desenvolvimento e maturação do tecido de granulação.

Através da utilização do modelo experimental que se encontra no trabalho de VIZIOLI (1975), foi possível estabelecermos um plano de estudo, o qual resultou no trabalho aqui apresentado.

Os animais utilizados, divididos em dois grandes grupos, Controle e Tratados foram subdivididos em sub-grupos, de acordo com períodos pré-estabelecidos de desenvolvimento do tecido de granulação, induzido artificialmente pelo implante sub-cutâneo dorsal traseiro de esponjas de PVC, em ratos.

Em resposta ao estímulo provocado, inicia-se a formação do tecido de granulação entre o 3º e 4º dias após o implante, através da migração de células fibrogenéticas e totipotentes. Essas células são originárias a partir da cápsula fibrosa reacional e proliferam-se até por volta do 15º ao 20º dia quando, então, a fase proliferativa propriamente dita chega ao final, estabelecendo-se a organização e maturação do tecido (VIZIOLI, 1973).

Ainda por volta do 21º dia, a população celular sofre uma redução apreciável, principalmente no que concerne aos fibroblastos (VIZIOLI, 1973, 1975).

Os parâmetros utilizados para tais avaliações prendem-se à quantidade de células fibroblásticas e mesenquimais, à síntese de mucopolissacarídeos ácidos (glicosaminoglicanas) e à neo formação de capilares sanguíneos encontrados no tecido.

O estudo morfológico do tecido de granulação provindo de animais que não sofreram a interferência medicamentosa (Grupo C), mostrou que os fenômenos proliferativos da resposta inflamatória evoluíram até o 14º dia e, através das leituras histofotométricas, foi possível mostrar que a síntese de mucopolissacarídeos ácidos (MPA) aumentou gradativamente, atingindo a fase mais ativa aos 10 dias após o início do processo, reduzindo posteriormente. Os mucopolissacarídeos ácidos livres no tecido têm condições de reagir e se ligar com as moléculas do corante metacromático Azul de Toluidina. Essas reações, detectadas através da histofotometria, nos permitem concluir que quanto maior a quantidade de MPA livres, uma maior quantidade de reações podem acontecer. A porcentagem de luz que atravessa o tecido observado e que é enviada ao histofotômetro, será proporcionalmente menor, a qual, expressa em absorvância nos fornece valores maiores.

Os valores das medidas através da histofotometria, obtidas nos tecidos sob condições normais, foram submetidos a análise estatística, cujas médias se encontram na tabela 1.

Ao analisarmos a proliferação dos tecidos de granulação dos animais tratados com Parenzyme^R (tripsina e alfa-quimotripsina) (Grupo P) pudemos verificar que as enzimas proteolíticas inibiram a evolução e a maturação do tecido de granulação aos 5º, 10º e 14º dias após o implante da esponja de PVC, como é mostrado nas figuras 1, 2 e 3, obtidas de cortes histológicos

corados com Hematoxilina-Eosina.

Este resultado vem ao encontro a citações de autores que relatam o efeito antiinflamatório das enzimas proteolíticas, no sentido de despolimerizar as moléculas proteicas (INNERFIELD, 1952, 1953; VELAZQUEZ e colabs., 1963).

Segundo INNERFIELD (1953), a ação terapêutica da tripsina, entre outras, seria a despolimerização das moléculas proteicas de grande peso molecular e a redução da viscosidade dos fluidos encapsulados e dos produtos de secreção.

Através da histofotometria, verificamos que a síntese de MPA sob influência das enzimas proteolíticas foi inibida desde o 5º até o 10º dia.

O mecanismo pelo qual as enzimas proteolíticas interferem, reduzindo a quantidade de MPA na substância intercelular, não está satisfatoriamente explicado pela bibliografia revista.

Da observação dos cortes histológicos corados com HE, dos animais sacrificados aos 21º e 28º dias após o implante, figuras 4 e 5 respectivamente, verificamos que não houve diferença significativa entre os tecidos dos animais do grupo controle e tratados com Parenzyme^R, ou seja, nestes períodos tanto para os animais tratados quanto para os do grupo controle verificamos o mesmo estágio de evolução e maturação do tecido de granulação. Esse fato nos leva a acreditar que tanto a tripsina quanto a alfa-quimotripsina não interferiram, ou não puderam interferir, no tecido neste estágio de desenvolvimento alcançado.

Continuando com a abordagem, nesse período a síntese de MPA reduziu significativamente tanto dos animais tratados quanto dos animais do grupo controle, indicando que a

partir do 21º dia de desenvolvimento do tecido de granulação, os MPA se agregam, incorporando-se aos feixes de colágeno. Assim, obviamente, será menor o número de reações metacromáticas, e portanto, menor a absorvância expressa por leituras numericamente menores.

Essa nossa observação coincide com PECILE e colabs. (1967), que trabalhando com tecido de granulação induzido em ratos, a partir do instante em que o mesmo se encontrava totalmente amadurecido, passaram a receber oralmente tetraciclina marcada associada com as enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina. Os resultados obtidos, quando comparados com o grupo de animais que receberam somente o antibiótico marcado, mostraram que neste estágio de desenvolvimento do tecido de granulação as enzimas favoreceram a absorção do antibiótico por via oral, porém, não foram capazes de facilitar a entrada do antibiótico para o interior do tecido de granulação.

Por outro lado, vários são os trabalhos que mostraram que as enzimas proteolíticas auxiliam na penetração de antibióticos em tecidos inflamados, como é o trabalho de GODOY JR. (1973), o qual mostrou que as enzimas proteolíticas aumentam o índice de penetrabilidade da Ampicilina no tecido amigdalino e plenamente confirmado por MENON e colabs. (1986).

Da observação dos cortes histológicos corados em H.E. provenientes dos animais tratados com tripsina, alfa-quimotripsina e paracetamol, verificamos que a associação das enzimas proteolíticas e o paracetamol promoveu inibição na evolução e maturação do tecido de granulação aos 5º, 10º e 14º dias após o implante da esponja de PVC, como é mostrado nas figuras 1, 2 e 3, respectivamente.

Há muito que a associação entre enzimas proteolíticas e outras drogas tais como antibióticos e analgésicos têm sido usadas. Estas associações medicamentosas têm mostrado bons resultados na terapêutica das inflamações.

A utilização de quimotripsina e tetraciclina, relatado por SENECA e PEER (1963), mostrou que a enzima proteolítica aumentou o grau de absorção do antibiótico pelo trato gastrintestinal (BORGO, 1970).

ESCARZAGA (1966), fazendo uso da associação entre as enzimas proteolíticas, tripsina e quimotripsina e o cloranfenicol no tratamento de pacientes com infecções sensíveis ao cloranfenicol, obteve 89,7% dos resultados classificados como bons.

FUKUDA e colabs. (1978), empregaram a ampicilina em associação com as enzimas proteolíticas alfa-quimotripsina e tripsina, no tratamento de infecções otorrinolaringológicas onde obtiveram resultados eficazes em 61,3% e parcialmente eficazes em 35,5% dos casos, totalizando 96,8%, como indicadores de boa utilização dessa associação medicamentosa.

Estudos sobre a associação medicamentosa entre as enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina e um analgésico eficaz como o paracetamol, foi realizado por PEREIRA e PADOVAM (1968), em diferentes intervenções cirúrgicas odontológicas. Os autores mostraram que a utilização da associação entre as enzimas e o analgésico é mais eficaz quando comparada com os resultados obtidos de pacientes que receberam somente as enzimas proteolíticas como medicação antiinflamatória. Esses resultados foram posteriormente confirmados por ACOSTA (1969) e RANGEL (1970).

Da observação do gráfico 10 onde estão expressas

em absorvância as médias das medidas histofotométricas dos diferentes grupos experimentais, verificamos aqueles que constituíram o grupo de 10 dias e que receberam Parenzyme Analgésico^R, mostraram marcante inibição da síntese de mucopolissacarídeos ácidos, quando comparado com os demais grupos de animais tratados. O resultado esperado, neste caso, seria de que esse grupo apresentasse inibição da síntese de mucopolissacarídeos ácidos semelhante ao grupo de animais que receberam somente Parenzyme^R. A razão desta expectativa se baseia na literatura existente que mostra que o paracetamol pode apresentar ação antiinflamatória somente quando administrado em doses maiores que as necessárias para se obter analgesia (GOODMAN e GILMAN, 1987), o que não ocorreu neste trabalho. Entretanto observando o gráfico 10 podemos verificar que o Eraldor^R administrado intraperitonealmente, durante os 3 últimos dias do período de desenvolvimento do tecido de granulação, interferiu de modo significativo na maturação e desenvolvimento do mesmo, aos 5º e 10º dias. Esse resultado que mostra uma interferência no desenvolvimento do tecido de granulação, assim como uma nítida inibição da síntese de MPA, vem justificar o resultado apresentado pelos animais que receberam Parenzyme Analgésico^R, onde a inibição na síntese de MPA, foi a mais significativa entre todos os grupos de animais tratados. Esse resultado foi marcante no grupo de 10 dias e ao nosso entender houve um sinergismo entre o paracetamol e as enzimas proteolíticas.

ANDRADE (1980), realizou estudo histológico e histofotométrico em tecidos de granulação de ratos em condições normais e sob ação de drogas antiinflamatórias, entre elas a tripsina. As observações do autor foram feitas aos 7, 14, 21

e 28 dias de desenvolvimento do tecido. A partir dos resultados obtidos o autor sugeriu que a enzima proteolítica estudada, interferiu positivamente no processo de reparação tecidual, no que diz respeito à síntese de colágeno e seu posterior desenvolvimento e maturação. Esse fato, como já dissemos, não ocorreu em nosso trabalho, porém é importante esclarecer que em nosso experimento os animais receberam uma mistura enzimática de tripsina e alfa -quimotripsina, o que, em termos de lise proteica, pareceu ser mais efetiva. Outro fator importante a ser considerado é que, no trabalho de ANDRADE, os animais tratados receberam doses diárias de tripsina durante todo o período experimental, e como podemos verificar, em nossos experimentos os animais receberam as enzimas proteolíticas 72 horas antes da retirada dos tecidos de granulação.

Assim, estabelecendo-se uma comparação entre os dois trabalhos, podemos sugerir que a administração crônica de enzimas proteolíticas talvez estimule a produção de inibidores enzimáticos circulantes.

Desde o início do século tem-se conhecimento de que a tripsina é inibida por uma fração de albumina no soro humano. Estabelecido esse fato iniciou-se uma preocupação em se determinar em valores absolutos, as quantidades de inibidores enzimáticos presentes em soro humano, sob condições normais e patológicas.

A quantidade de soro que inibe uma determinada concentração de tripsina foi proposta por HOMER e cols. (1960) utilizando caseína marcada com ^{131}I . Esse trabalho mostrou que 1 mililitro de soro tem a capacidade de inibir 0,87 miligramas de tripsina, e isso fica mais evidenciado em paci-

entes portadores de anormalidades pancreáticas.

Anteriormente aos estudos de HOMER, JACOBSON (1953), fazendo uso do fracionamento eletroforético, confirmava a existência de dois diferentes inibidores de tripsina no soro humano, α_1 e α_2 globulinas (LASKOWSKI, 1954).

Altos níveis de α_1 -antitripsina e α_2 macroglobulina, foram encontrados no líquido sinovial de pacientes portadores de artrite reumatóide, quando comparados com o grupo controle (ROBINSON e colabs., 1981).

Até o presente momento não dispomos, através da bibliografia consultada, de dados sobre a existência e ou níveis de inibidores enzimáticos dentro do tecido de granulação.

Muito embora este trabalho tenha se esforçado em mostrar que as enzimas proteolíticas administradas isoladamente, e em associação com o paracetamol, exerçam influência sobre o desenvolvimento e maturação do tecido de granulação, colaborando com o esclarecimento do tratamento de processos inflamatórios, o assunto ainda carece de maiores investigações. O fato é que nossos resultados mostram a influência da administração, como era o seu propósito, ficando para investigações futuras os mecanismos responsáveis pelos fenômenos observados.

CAPÍTULO VI

1. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, dentro das nossas condições experimentais, permitiram concluir que:

1) As enzimas proteolíticas inibiram a evolução e a maturação do tecido de granulação aos 5, 10 e 14 dias após o implante da esponja de PVC.

2) Aos 21 e 28 dias após o implante da esponja de PVC, não houve diferença significativa entre os tecidos de granulação dos animais dos grupos Controle e Tratados com as enzimas proteolíticas.

3) O paracetamol interferiu de modo significativo, inibindo parcialmente o desenvolvimento e maturação do tecido de granulação aos 5 e 10 dias após o implante da esponja de PVC.

4) A associação das enzimas proteolíticas com o paracetamol promoveu inibição parcial na evolução e maturação do tecido de granulação aos 5, 10 e 14 dias após o implante da esponja de PVC.

5) As enzimas proteolíticas tripsina e alfa-quimo tripsina e o paracetamol, reduziram a síntese de mucopolissacarídeos ácidos desde o 5º até o 10º dia de desenvolvimento do tecido de granulação, sendo que esta redução foi mais marcante no 10º dia.

6) As enzimas proteolíticas promoveram maior redução na síntese de mucopolissacarídeos ácidos que o paracetamol.

7) A associação das enzimas proteolíticas com o paracetamol promoveu maior redução na síntese de mucopolissacarídeos ácidos, quando comparado com a administração das enzimas e do paracetamol, isoladamente.

CAPÍTULO VII

1. RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi verificar a influência da tripsina, quimiotripsina e paracetamol em tecido de granulação induzido pelo implante de esponja de PVC, subcutâneamente, na região dorsal traseira, de ratos.

Os animais foram divididos em dois Grupos: Controle e Tratados, onde tiveram seus tecidos de granulação retirados aos 5, 10, 14, 21 e 28 dias após implante da esponja de PVC. Os referidos tecidos foram então encaminhados para confecção de lâminas histopatológicas para coloração com Hematoxilina-Eosina, para estudo morfológico e evolutivo e reação metacromática com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos (glicosaminoglicanas).

Os animais do grupo Tratado, foram por sua vez divididos em três grupos: Grupo Parenzyme^R, Grupo Parenzyme Analgésico^R e Grupo Eraldor^R.

Os três grupos de animais tratados, receberam pela via intraperitoneal as respectivas drogas em estudo. A administração das drogas ocorreu nos três últimos dias dos períodos pré-determinados de desenvolvimento do tecido de granulação, a cada 8 horas.

Os resultados obtidos, dentro de nossas condições experimentais, mostraram que o Parenzyme^R, o Parenzyme Analgésico^R e Eraldor^R, interferiram na síntese de mucopolissacarídeos ácidos (glicosaminoglicanas) e colágeno, promovendo inibição do desenvolvimento e da maturação do tecido de granulação notadamente no 10º dia após o implante das esponjas de PVC.

CAPÍTULO VIII

1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, F.D. Resultados de la investigación de enzimas anti-inflamatórias asociadas al acetaminofen, en cirugía reconstructiva Y funcional de la nariz. Medicina, 46(1069):533-8, 1969.

ANDRADE, E.D. Estudo histológico e histofotométrico do tecido de granulação de ratos em condições normais e sob ação de drogas antiinflamatórias. Piracicaba, 1980. 48p. [Tese (Mestrado) - F.O.P. - UNICAMP].

ATHIE, G.C. et alii. Efecto de las enzimas proteolíticas de origem pancreático administradas en pacientes operados. Medicina, 45(961): 145-50, 1965.

BAZIN, S.; LE LOUS, M.; DE LAUNAY, A. Collagen in granulation tissues. Agents Actions, 6: 272-6, 1976.

BECK, C.; LEVINE, J.A.; DAVIS, O.F.; HORWITZ, B. Clinical studies with and oral anti-inflammatory enzyme preparation. Clin. Med.: 519-22, Mar., 1960.

BENTLEY, J.P. Rate of chondroitin sulfate formation in wound healing. Ann. Surg., 165: 186-91, 1967.

BOGNER, R.L.; EDELMAN, A.; MARTIN, G. In vivo observations with radioactive trypsin. Archs int. Pharmacodyn., 118(1/2): 122-37, 1959.

- BORGO, E. Mistura enzimático-antibiótica em Odontologia - Primeiras observações. Hospital, 77(2): 649-60, fev. 1970.
- CAMUS, L. & GLEY, E. Action du sérum sanguin sur quelques ferments digestifs. Compt. rend. Soc. de biol., 49(825) , 1897.
- CIUBOTARIU, M. Tratamentul cu enzime al paradontitelos apicale acute si cronice. Stomatologia, 28(4): 271-6, 1981.
- 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. Reparation du tissue conjonctif. Archs Ophthal., 35: 115-26, 1975.
- EDWARDS, G. & CALVERT, R.T. The effect of proteolytic enzymes on the disposition of tetracycline. J. Pharm. Pharmac. 32: 404-7, 1980.
- ESCÁRZAGA, E.T. Accion de las enzimas proteolíticas asociadas al cloranfenicol, en el tratamiento de infecciones en humanos causadas por bacterias susceptibles a Dicho antibiótico. Medicina, 46. mar. 1966.
- FAROUK, A. Antibacterial activity of proteolytic enzymes. Int. J. pharm., 12: 295-8, 1982.
- FEINMAN, J.; SHERMAN, J.; McMILLAN, D. Oral proteolytic enzymes (Pancreatic in traumatic dental surgery - A two-Part

Double - Blind Study. N.Y. St. dent. J., 33: 336-41, June 1967.

FIGUEROLA, A.M.J. Los enzimas proteolíticos en el tratamiento de las infecciones del aparato respiratório. Medna clin., 28(2): 106-9, 1957.

FUKUDA, Y.; WECKX, L.L.M.; ALBERNAZ, P.L.M. Associação de Ampicilina com enzimas proteolíticas (α -Quimiotripsina e Tripsina) em infecções otorrinolaringológicas. Folha méd., 77(3): 299-302, 1978.

GODOY JR., O.M. Influência de enzima proteolítica (α -quimiotripsina) sobre a penetrabilidade de Ampicilina Tríhidrato em tecido amigdalino. Estudo na espécie human. Folha méd., 66(4): 883-922, abr., 1973.

GOODMAN, L.S. & GILMAN, A.G. As bases farmacológicas da terapêutica. 7.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1987. p. 455.

HOMER, G.M. et alii. The trypsin inhibitor capacity of serum in normal and diseased states. Am J. clin. Path., 34(2): 99-107, Aug., 1960.

INNERFIELD, I.; SCHWARZ, A.; ANGRIST, A. Intravenous trypsin: Its anticoagulant, fibrinolytic and thrombotic effects. J. Clin. Invest., 31: 1049-55, 1952.

_____; ANGRIST, A.; SCHEARZ, A. Parenteral administration

- of trypsin. J. Am. Med. Ass., 152(7): 597-605, June, 1953.
- JACOBSSON, K. Eletrophoretic demonstration of two tripsin inhibitors in human blood serum. Scand. J. clin. Lab. Invest., 5: 97-8, 1953.
- KABACOFF, B.L.; WOHLMAN, A.; UMHEY, M.; AVAKIAN, S. Absorption of chymotripsin from the intestinal tract. Nature, 199(4895): 815, Aug., 1963.
- KIESER, B.J. et alii. The effect of a proteolytic enzyme mixture (orenzyme-forte) on experimentally induced pulpitis. Oral Surg., Oral Med., Oral Path., 43: 300-5, 1977.
- KLEINFELD, G. & HABIF, D.V. Effect of trypsin and chymotrypsin on the granuloma Pouch. Proc. Soc. exp. Biol., 87: 585-6, 1954.
- KUNITZ, M. & NORTHROP, J.H. Apud LASKOWSKI, M. & LASKOWSKI JR., M. Naturally occurring tripsin inhibitors. Adv. Protein Chem., 9: 203-42, 1954.
- LANDSTEINER, K. Zur Kenntniss der antifermentativen, lytschem und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. Zbl. Bakt., 27:(357), 1900.
- LASKOWSKI, M. & LASKOWSKI JR., M. Naturally occurring tripsin inhibitors. Adv. Protein Chem., 9: 203-42, 1954.
- LISON, L. Histochimie et cytochimie animales: principes et

- méthodes. Paris, Gauthier - Villars, 1960. v.1, p.280-1.
- Mc MINN, R.M.H. & 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. Surgery, 64: 288-94, 1968.
- MARTIN, G.J.; BRENDDEL, R.; BAILER, J.M. Absorption of enzymes from the intestinal tract. Am. J. Pharm., 129(6):194-7, 1957.
- MARTIN, H. Proteolytic enzymes in podiatry. J. Am. Podiatry Ass., 50(3) mar. 1960.
- MENON, A.D. et alii. Estudo duplo-cego, comparativo, sobre a disponibilidade sanguínea e em tecido amigdalino, da ampicilina trihidratada sob forma isolada e em combinação com tripsina e quimiotripsina. Folha méd., 92(6): 407-10, jun. 1986.
- MILLER, J.M.; ROBINSON, D.R.; WILLIARD, R.F. The reaction between trypsin ¹³¹I and human blood. Expl. Méd. Surg., 18: 348-51, 1960.
- PEARSE, A.G.E. Histochemistry; Theoretical and Applied. 3. ed. London, Churchill, 1968. U. 1, p.331.
- PECILE, A.; TOSI, G.; FERRARIO, G.; VERONELLI, C. Effect of proteolytic enzymes on the absorption of Tetracycline. Farmaco, 22(10): 583-9, 1967.

- PEREIRA, G. & PADOVAN, G. Associação enzimático - analgésica em Odontologia. Hospital, 73(2): 655-61, fev. 1968.
- PERNOD, J. & ARCHANE, M.D. Action sur bronchorrhée de l'association enzymes proteolytiques du pancreas et tetracycline. Therapie, 20: 721-9, 1965.
- RANGEL, C.A. Enzimas anti-inflamatórias y Acetaminofen en cirugía otorrinolaringológica. Medicina, 50(1085): 253-6, 1970.
- REKKANDT, S.A. Effect of chymotrypsin, trypsin and pepsin on activity of some antibiotics. Antibiotiki, 19(5): 447-8, May 1974.
- REYES, S.H.; NORIEGA, R.R.; VIVERO, P.A. Enzimas pancreáticas anti-inflamatórias: aplicación y uso practico en cirugía ortopedica. Medicina, 100: 82-92, feb. 1967.
- ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. Patologia estrutural e funcional. 3.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1986. p. 39.
- ROBINSON; A.D. et alii. Antitrypsin activity and enzyme inhibitors in the rheumatoid joint. J. Rheumat., 8(4): 547-54, 1981.
- ROSS, R. The fibroblast and wound repair. Biol. Rev., 43: 51-96, 1968.

- SENECA, H. & PEER, P. Effect of chymotrypsin on the absorption of tetracycline from the intestinal tract. Antimicrob. Ag. Chemother.: 657-61, 1963.
- SHERRY, S. & FLETCHER, A.P. Proteolytic enzymes: A therapeutic evaluation. Clin. Pharmac. Ther., 1(2): 202-26, Mar./Apr. 1960.
- SPIEGEL, L.H. Proteolytic enzymes (intramuscular and topical) an aid in treatment of refractory dry sockets (localized acute alveolar osteomyelitis). Oral Surg., Oral Med., Oral Path., 11(7): 692-6, July, 1958.
- STUTEVILLE, O.H. The effects of oral pancreatic proteolytic enzymes on hematoma resolution. Exhibit presented at Michigan - Academy of General Practice, Detroit, Michigan, November 11-12, 1964.
- UGOLINI, O. O uso das enzimas proteolíticas nas broncopneumopatias. Revta. paul. Med., 62(2): 102-8, fev. 1963.
- VELÁZQUEZ, E.V.; ZEPEDA, J.G.; GALARZA, V.G. Acción de las enzimas proteolíticas sobre el material de sutura absorbible. Neumol. Cir. Torax, 24(4): 275-7, 1963.
- VIEIRA, F.P. Emprego de enzimas proteolíticas no tratamento de otite média crônica exsudativa. Revta. bras. clín. Terap., 2(3): 97-8, 1973.
- VIZIOLI, M.R. Dynamics of fibrillar components in rat sponge

induced granulation tissue. Acta anat., 85: 368-77, 1973.

VIZIOLI, M.R. Relação entre fosfomono-esterases e a síntese de colágeno e mucopolissacarídeos ácidos no tecido de granulação. Piracicaba, 1975. 65p. [Tese (Livre-Docência) - F.O.P.-UNICAMP].

APÉNDICE

MEDIDAS HISTOFOTOMÉTRICAS

1. ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE - PERÍODO: 5 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,098	0,082	0,080	0,032	0,044	0,030
	0,034	0,086	0,044	0,035	0,030	0,032
	0,028	0,064	0,056	0,074	0,028	0,026
	0,074	0,029	0,038	0,020	0,021	0,032
	0,043	0,072	0,098	0,038	0,058	0,028
02	0,019	0,072	0,046	0,032	0,030	0,023
	0,061	0,055	0,084	0,049	0,038	0,030
	0,021	0,048	0,058	0,022	0,024	0,038
	0,068	0,046	0,041	0,082	0,027	0,035
	0,022	0,046	0,083	0,076	0,073	0,029
03	0,053	0,051	0,061	0,046	0,049	0,047
	0,053	0,046	0,048	0,044	0,044	0,048
	0,047	0,043	0,047	0,046	0,046	0,047
	0,048	0,048	0,045	0,048	0,051	0,048
	0,049	0,047	0,044	0,047	0,049	0,049
04	0,043	0,046	0,058	0,048	0,041	0,047
	0,048	0,048	0,048	0,047	0,046	0,046
	0,043	0,045	0,047	0,048	0,045	0,048
	0,048	0,043	0,045	0,047	0,048	0,047
	0,047	0,051	0,041	0,046	0,047	0,047

2. ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE - PERÍODO: 10 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,092	0,114	0,148	0,070	0,118	0,116
	0,069	0,094	0,082	0,116	0,089	0,092
	0,098	0,128	0,102	0,092	0,138	0,112
	0,091	0,099	0,091	0,098	0,160	0,176
	0,065	0,164	0,090	0,081	0,092	0,084
02	0,134	0,116	0,058	0,098	0,065	0,087
	0,048	0,096	0,042	0,089	0,091	0,116
	0,068	0,084	0,096	0,156	0,071	0,079
	0,079	0,044	0,110	0,089	0,169	0,056
	0,036	0,111	0,142	0,070	0,148	0,051
03	0,081	0,093	0,099	0,089	0,097	0,081
	0,089	0,098	0,095	0,086	0,096	0,087
	0,114	0,089	0,094	0,117	0,097	0,085
	0,098	0,111	0,090	0,091	0,091	0,087
	0,097	0,117	0,095	0,093	0,098	0,087
04	0,117	0,101	0,091	0,094	0,095	0,093
	0,112	0,105	0,098	0,098	0,091	0,107
	0,112	0,099	0,097	0,097	0,096	0,101
	0,098	0,083	0,091	0,121	0,102	0,098
	0,112	0,084	0,089	0,098	0,098	0,097

3. ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE - PERÍODO: 14 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,026	0,026	0,043	0,019	0,061	0,026
	0,032	0,104	0,024	0,015	0,032	0,036
	0,036	0,026	0,069	0,031	0,051	0,065
	0,018	0,031	0,084	0,021	0,049	0,062
	0,136	0,033	0,034	0,048	0,018	0,018
02	0,056	0,035	0,042	0,032	0,043	0,025
	0,026	0,092	0,021	0,032	0,031	0,018
	0,028	0,032	0,032	0,065	0,062	0,032
	0,119	0,050	0,048	0,062	0,048	0,021
	0,056	0,046	0,024	0,032	0,016	0,018
03	0,031	0,039	0,043	0,037	0,042	0,042
	0,038	0,053	0,041	0,036	0,043	0,041
	0,044	0,049	0,039	0,044	0,041	0,041
	0,042	0,043	0,044	0,043	0,041	0,039
	0,041	0,042	0,039	0,043	0,040	0,043
04	0,039	0,043	0,042	0,043	0,041	0,041
	0,043	0,041	0,047	0,042	0,039	0,041
	0,044	0,042	0,042	0,043	0,043	0,042
	0,039	0,039	0,051	0,044	0,046	0,042
	0,042	0,027	0,052	0,042	0,043	0,039

4. ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE - PERÍODO: 21 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,019	0,011	0,014	0,011	0,062	0,025
	0,026	0,025	0,016	0,025	0,024	0,014
	0,005	0,038	0,052	0,004	0,023	0,018
	0,017	0,016	0,051	0,013	0,018	0,032
	0,014	0,024	0,027	0,028	0,027	0,022
02	0,011	0,018	0,018	0,022	0,026	0,018
	0,013	0,042	0,028	0,024	0,065	0,024
	0,007	0,027	0,023	0,059	0,048	0,048
	0,021	0,028	0,019	0,051	0,062	0,027
	0,012	0,009	0,031	0,039	0,019	0,014
03	0,017	0,028	0,029	0,031	0,034	0,029
	0,024	0,031	0,027	0,032	0,032	0,028
	0,021	0,032	0,026	0,032	0,031	0,031
	0,020	0,036	0,029	0,034	0,036	0,032
	0,027	0,030	0,018	0,036	0,032	0,029
04	0,031	0,026	0,031	0,031	0,031	0,030
	0,032	0,032	0,032	0,034	0,030	0,032
	0,029	0,048	0,030	0,032	0,032	0,034
	0,027	0,039	0,033	0,029	0,031	0,031
	0,028	0,042	0,031	0,032	0,029	0,032

5. ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE - PERÍODO: 28 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,023	0,012	0,011	0,010	0,007	0,012
	0,012	0,010	0,009	0,012	0,009	0,010
	0,011	0,009	0,008	0,013	0,011	0,011
	0,015	0,011	0,017	0,012	0,012	0,021
	0,009	0,009	0,016	0,010	0,021	0,012
02	0,010	0,012	0,009	0,010	0,017	0,012
	0,018	0,017	0,018	0,012	0,012	0,010
	0,012	0,009	0,015	0,017	0,009	0,005
	0,021	0,012	0,012	0,021	0,012	0,007
	0,012	0,008	0,010	0,022	0,011	0,012
03	0,014	0,016	0,012	0,010	0,015	0,011
	0,015	0,010	0,014	0,012	0,013	0,012
	0,009	0,012	0,013	0,012	0,014	0,013
	0,010	0,015	0,012	0,014	0,012	0,012
	0,015	0,016	0,014	0,021	0,013	0,011
04	0,010	0,016	0,012	0,013	0,009	0,011
	0,014	0,009	0,014	0,013	0,013	0,012
	0,014	0,012	0,014	0,012	0,013	0,013
	0,013	0,013	0,012	0,011	0,012	0,013
	0,014	0,014	0,011	0,012	0,012	0,011

6. ANIMAIS DO GRUPO PARENZYME^R - PERÍODO: 5 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,028	0,021	0,092	0,069	0,043	0,093
	0,043	0,061	0,024	0,034	0,051	0,082
	0,019	0,026	0,052	0,056	0,032	0,026
	0,043	0,096	0,087	0,024	0,021	0,019
	0,029	0,019	0,069	0,022	0,044	0,015
02	0,026	0,028	0,056	0,034	0,024	0,034
	0,042	0,030	0,022	0,024	0,023	0,052
	0,024	0,032	0,043	0,082	0,054	0,019
	0,025	0,034	0,021	0,019	0,047	0,017
	0,014	0,026	0,085	0,015	0,069	0,018
03	0,032	0,038	0,035	0,029	0,036	0,036
	0,039	0,037	0,036	0,030	0,035	0,032
	0,017	0,028	0,035	0,031	0,034	0,038
	0,029	0,032	0,035	0,029	0,036	0,041
	0,035	0,031	0,038	0,033	0,027	0,031
04	0,038	0,036	0,038	0,027	0,036	0,037
	0,042	0,027	0,042	0,038	0,032	0,042
	0,031	0,036	0,045	0,036	0,038	0,045
	0,036	0,035	0,038	0,035	0,035	0,038
	0,038	0,037	0,036	0,038	0,025	0,032

7. ANIMAIS DO GRUPO PARENZYME^R - PERÍODO: 10 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,088	0,108	0,109	0,021	0,081	0,072
	0,056	0,102	0,115	0,104	0,039	0,038
	0,080	0,078	0,096	0,034	0,056	0,053
	0,040	0,108	0,014	0,035	0,038	0,015
	0,050	0,058	0,031	0,077	0,082	0,114
02	0,163	0,062	0,061	0,084	0,106	0,054
	0,045	0,126	0,010	0,054	0,046	0,021
	0,113	0,068	0,118	0,029	0,039	0,083
	0,058	0,056	0,012	0,074	0,078	0,039
	0,078	0,071	0,050	0,067	0,072	0,076
03	0,067	0,062	0,071	0,067	0,064	0,061
	0,065	0,068	0,069	0,066	0,066	0,064
	0,068	0,061	0,065	0,058	0,067	0,053
	0,081	0,059	0,062	0,051	0,066	0,059
	0,072	0,063	0,064	0,062	0,062	0,065
04	0,073	0,061	0,073	0,068	0,068	0,059
	0,069	0,059	0,074	0,062	0,067	0,061
	0,062	0,064	0,061	0,053	0,063	0,062
	0,062	0,068	0,067	0,051	0,062	0,068
	0,068	0,071	0,063	0,072	0,068	0,069

8. ANIMAIS DO GRUPO PARENZYME^R - PERÍODO: 14 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,019	0,061	0,040	0,042	0,038	0,049
	0,044	0,028	0,032	0,039	0,036	0,049
	0,014	0,039	0,056	0,041	0,029	0,042
	0,042	0,014	0,029	0,039	0,038	0,031
	0,043	0,022	0,031	0,038	0,051	0,054
02	0,033	0,042	0,041	0,045	0,057	0,033
	0,052	0,042	0,037	0,042	0,042	0,045
	0,056	0,039	0,032	0,039	0,048	0,046
	0,045	0,041	0,036	0,037	0,032	0,049
	0,054	0,032	0,042	0,039	0,038	0,054
03	0,038	0,036	0,032	0,032	0,037	0,035
	0,036	0,032	0,037	0,038	0,038	0,034
	0,041	0,029	0,035	0,036	0,037	0,037
	0,029	0,038	0,030	0,035	0,038	0,036
	0,032	0,037	0,031	0,036	0,038	0,039
04	0,039	0,029	0,039	0,041	0,032	0,041
	0,031	0,032	0,038	0,037	0,038	0,042
	0,041	0,033	0,042	0,038	0,038	0,048
	0,040	0,038	0,041	0,039	0,038	0,042
	0,042	0,039	0,038	0,039	0,040	0,039

9. ANIMAIS DO GRUPO PARENZYME^R - PERÍODO: 21 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,054	0,010	0,033	0,013	0,024	0,032
	0,039	0,028	0,022	0,018	0,026	0,032
	0,041	0,017	0,043	0,021	0,021	0,026
	0,021	0,026	0,013	0,018	0,024	0,027
	0,042	0,016	0,026	0,019	0,040	0,040
02	0,021	0,029	0,018	0,007	0,019	0,024
	0,032	0,018	0,026	0,019	0,019	0,022
	0,032	0,026	0,026	0,072	0,017	0,024
	0,034	0,017	0,021	0,032	0,019	0,019
	0,054	0,021	0,018	0,021	0,010	0,017
03	0,012	0,027	0,023	0,018	0,025	0,018
	0,014	0,025	0,025	0,028	0,019	0,012
	0,017	0,026	0,026	0,027	0,024	0,026
	0,011	0,028	0,018	0,026	0,023	0,025
	0,031	0,029	0,029	0,027	0,031	0,027
04	0,017	0,028	0,028	0,026	0,021	0,026
	0,018	0,027	0,031	0,026	0,012	0,027
	0,018	0,023	0,018	0,025	0,019	0,026
	0,025	0,024	0,017	0,023	0,025	0,024
	0,024	0,022	0,025	0,022	0,024	0,023

10. ANIMAIS DO GRUPO PARENZYME^R - PERÍODO: 28 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,014	0,010	0,013	0,010	0,014	0,012
	0,012	0,010	0,014	0,009	0,010	0,016
	0,021	0,015	0,016	0,017	0,005	0,021
	0,018	0,012	0,009	0,021	0,014	0,023
	0,021	0,012	0,010	0,016	0,017	0,017
02	0,009	0,017	0,010	0,010	0,028	0,010
	0,018	0,017	0,009	0,004	0,014	0,011
	0,010	0,012	0,010	0,012	0,018	0,007
	0,017	0,014	0,016	0,016	0,015	0,009
	0,021	0,013	0,013	0,021	0,012	0,012
03	0,017	0,009	0,011	0,011	0,012	0,012
	0,016	0,016	0,012	0,014	0,008	0,012
	0,018	0,014	0,009	0,007	0,011	0,011
	0,012	0,013	0,011	0,010	0,013	0,010
	0,011	0,012	0,010	0,011	0,008	0,011
04	0,012	0,010	0,003	0,012	0,012	0,011
	0,011	0,009	0,009	0,011	0,011	0,010
	0,014	0,009	0,014	0,008	0,011	0,011
	0,009	0,011	0,011	0,008	0,014	0,010
	0,012	0,012	0,012	0,009	0,008	0,012

11. ANIMAIS DO GRUPO PARENZYME ANALGÉSICO^R - PERÍODO: 5 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,032	0,041	0,051	0,031	0,026	0,051
	0,050	0,012	0,083	0,044	0,041	0,061
	0,028	0,063	0,032	0,094	0,069	0,089
	0,078	0,024	0,024	0,088	0,057	0,045
	0,032	0,026	0,031	0,038	0,031	0,034
02	0,037	0,028	0,051	0,063	0,042	0,038
	0,047	0,048	0,026	0,079	0,051	0,048
	0,040	0,047	0,054	0,063	0,028	0,042
	0,064	0,053	0,053	0,042	0,044	0,089
	0,060	0,061	0,076	0,080	0,046	0,036
03	0,055	0,048	0,055	0,051	0,058	0,053
	0,053	0,043	0,051	0,049	0,053	0,059
	0,057	0,043	0,053	0,048	0,053	0,061
	0,058	0,059	0,058	0,039	0,054	0,053
	0,063	0,058	0,055	0,057	0,055	0,056
04	0,061	0,058	0,053	0,057	0,058	0,056
	0,059	0,058	0,049	0,053	0,056	0,058
	0,049	0,047	0,042	0,054	0,048	0,048
	0,053	0,041	0,057	0,056	0,049	0,052
	0,057	0,039	0,058	0,057	0,049	0,057

12. ANIMAIS DO GRUPO PARENZYME ANALGÉSICO^R - PERÍODO: 10 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,037	0,026	0,068	0,048	0,037	0,029
	0,037	0,038	0,061	0,057	0,047	0,041
	0,034	0,056	0,030	0,040	0,038	0,035
	0,043	0,033	0,046	0,034	0,030	0,032
	0,028	0,032	0,030	0,027	0,035	0,054
02	0,032	0,043	0,028	0,019	0,040	0,026
	0,026	0,035	0,042	0,041	0,061	0,031
	0,028	0,030	0,031	0,032	0,036	0,033
	0,032	0,029	0,036	0,053	0,028	0,057
	0,031	0,034	0,025	0,046	0,026	0,034
03	0,036	0,042	0,039	0,041	0,032	0,029
	0,029	0,041	0,020	0,036	0,032	0,032
	0,018	0,036	0,037	0,032	0,034	0,037
	0,027	0,036	0,038	0,029	0,035	0,035
	0,032	0,038	0,039	0,036	0,036	0,038
04	0,029	0,027	0,058	0,029	0,027	0,037
	0,032	0,035	0,032	0,037	0,038	0,038
	0,043	0,034	0,033	0,042	0,039	0,044
	0,041	0,035	0,036	0,048	0,039	0,039
	0,032	0,043	0,038	0,031	0,028	0,032

13. ANIMAIS DO GRUPO PARENCYME ANALGÉSICO^R - PERÍODO: 14 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,014	0,036	0,051	0,053	0,047	0,035
	0,074	0,012	0,042	0,064	0,010	0,038
	0,021	0,032	0,057	0,116	0,008	0,044
	0,048	0,033	0,070	0,072	0,026	0,042
	0,043	0,024	0,105	0,018	0,027	0,126
02	0,058	0,035	0,071	0,037	0,036	0,089
	0,048	0,033	0,059	0,035	0,060	0,072
	0,033	0,064	0,024	0,040	0,035	0,076
	0,039	0,059	0,029	0,051	0,038	0,048
	0,040	0,018	0,032	0,038	0,042	0,032
03	0,051	0,043	0,048	0,044	0,041	0,039
	0,049	0,046	0,046	0,046	0,038	0,044
	0,049	0,046	0,047	0,046	0,053	0,052
	0,045	0,053	0,039	0,045	0,054	0,047
	0,044	0,055	0,047	0,046	0,042	0,041
04	0,039	0,047	0,046	0,039	0,063	0,046
	0,041	0,046	0,044	0,044	0,039	0,044
	0,048	0,039	0,048	0,045	0,042	0,043
	0,054	0,047	0,047	0,053	0,041	0,041
	0,049	0,043	0,037	0,061	0,039	0,039

14. ANIMAIS DO GRUPO PARENZYME ANALGÉSICO^R - PERÍODO: 21 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,017	0,026	0,007	0,021	0,032	0,029
	0,037	0,033	0,031	0,026	0,016	0,025
	0,021	0,032	0,009	0,024	0,021	0,042
	0,024	0,008	0,078	0,021	0,024	0,038
	0,028	0,017	0,010	0,019	0,032	0,038
02	0,016	0,025	0,032	0,011	0,027	0,012
	0,012	0,025	0,056	0,020	0,018	0,013
	0,018	0,026	0,031	0,022	0,017	0,018
	0,027	0,029	0,019	0,023	0,018	0,019
	0,028	0,022	0,016	0,022	0,011	0,019
03	0,024	0,021	0,016	0,022	0,019	0,021
	0,019	0,024	0,017	0,021	0,018	0,022
	0,017	0,019	0,023	0,022	0,021	0,024
	0,014	0,018	0,025	0,018	0,025	0,019
	0,022	0,018	0,023	0,021	0,022	0,018
04	0,018	0,021	0,022	0,020	0,019	0,009
	0,017	0,020	0,025	0,020	0,020	0,018
	0,011	0,020	0,019	0,021	0,021	0,021
	0,019	0,019	0,021	0,017	0,013	0,022
	0,023	0,022	0,019	0,018	0,019	0,023

15. ANIMAIS DO GRUPO PARENZYME ANALGÉSICO^R - PERÍODO: 28 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,010	0,010	0,018	0,010	0,012	0,013
	0,012	0,011	0,010	0,010	0,011	0,014
	0,009	0,010	0,012	0,012	0,010	0,010
	0,011	0,009	0,013	0,011	0,012	0,009
	0,013	0,004	0,009	0,013	0,015	0,004
02	0,017	0,021	0,007	0,013	0,007	0,010
	0,010	0,012	0,010	0,014	0,010	0,012
	0,015	0,010	0,012	0,012	0,009	0,012
	0,015	0,044	0,012	0,013	0,008	0,010
	0,010	0,013	0,010	0,014	0,012	0,005
03	0,010	0,013	0,012	0,007	0,012	0,012
	0,007	0,007	0,013	0,008	0,010	0,011
	0,010	0,008	0,007	0,011	0,009	0,010
	0,008	0,011	0,006	0,013	0,008	0,013
	0,012	0,011	0,005	0,011	0,005	0,007
04	0,012	0,010	0,007	0,005	0,012	0,004
	0,004	0,010	0,010	0,008	0,011	0,008
	0,008	0,011	0,011	0,010	0,010	0,012
	0,012	0,013	0,012	0,013	0,011	0,010
	0,011	0,008	0,008	0,013	0,010	0,011

16. ANIMAIS DO GRUPO ERALDOR^R - PERÍODO: 5 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,031	0,075	0,038	0,018	0,034	0,022
	0,042	0,036	0,044	0,017	0,054	0,011
	0,031	0,053	0,028	0,024	0,031	0,024
	0,032	0,059	0,010	0,021	0,063	0,022
	0,045	0,051	0,019	0,020	0,024	0,016
02	0,008	0,043	0,027	0,023	0,031	0,059
	0,038	0,029	0,025	0,020	0,022	0,045
	0,017	0,048	0,079	0,046	0,024	0,038
	0,042	0,018	0,045	0,034	0,052	0,024
	0,016	0,051	0,014	0,020	0,016	0,016
03	0,041	0,039	0,034	0,031	0,032	0,030
	0,039	0,031	0,032	0,029	0,031	0,032
	0,038	0,032	0,029	0,028	0,032	0,031
	0,032	0,033	0,031	0,026	0,031	0,027
	0,031	0,031	0,032	0,033	0,031	0,033
04	0,018	0,031	0,034	0,032	0,029	0,033
	0,033	0,032	0,032	0,031	0,028	0,031
	0,039	0,033	0,019	0,032	0,030	0,032
	0,034	0,031	0,031	0,034	0,031	0,033
	0,033	0,032	0,032	0,030	0,032	0,029

17. ANIMAIS DO GRUPO ERALDOR^R - PERÍODO: 10 dias

ANIMAIA	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,039	0,114	0,010	0,010	0,037	0,018
	0,102	0,030	0,010	0,034	0,061	0,074
	0,094	0,082	0,076	0,048	0,015	0,078
	0,028	0,062	0,021	0,051	0,081	0,066
	0,082	0,063	0,022	0,090	0,024	0,068
02	0,012	0,053	0,054	0,146	0,061	0,038
	0,097	0,040	0,067	0,088	0,015	0,058
	0,012	0,063	0,087	0,076	0,024	0,068
	0,034	0,033	0,069	0,046	0,074	0,043
	0,058	0,048	0,097	0,032	0,068	0,021
03	0,061	0,057	0,053	0,057	0,053	0,057
	0,054	0,054	0,052	0,054	0,054	0,056
	0,057	0,054	0,049	0,052	0,051	0,056
	0,058	0,053	0,048	0,053	0,058	0,057
	0,056	0,052	0,053	0,054	0,057	0,056
04	0,054	0,059	0,058	0,063	0,061	0,059
	0,067	0,061	0,049	0,064	0,058	0,061
	0,063	0,059	0,049	0,061	0,059	0,060
	0,064	0,057	0,053	0,059	0,061	0,059
	0,061	0,053	0,051	0,060	0,062	0,063

18. ANIMAIS DO GRUPO ERALDOR^R - PERÍODO: 14 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,029	0,082	0,030	0,036	0,042	0,077
	0,074	0,042	0,119	0,032	0,090	0,062
	0,024	0,074	0,048	0,037	0,085	0,052
	0,072	0,046	0,071	0,016	0,109	0,104
	0,014	0,032	0,042	0,092	0,103	0,104
02	0,042	0,030	0,074	0,036	0,024	0,052
	0,032	0,037	0,052	0,042	0,026	0,029
	0,047	0,071	0,077	0,048	0,091	0,030
	0,014	0,072	0,103	0,072	0,085	0,042
	0,014	0,032	0,091	0,077	0,072	0,101
03	0,072	0,063	0,071	0,061	0,061	0,060
	0,069	0,062	0,068	0,062	0,064	0,060
	0,068	0,059	0,054	0,061	0,059	0,058
	0,053	0,064	0,062	0,068	0,061	0,059
	0,061	0,059	0,063	0,067	0,063	0,061
04	0,061	0,059	0,057	0,057	0,050	0,051
	0,059	0,054	0,053	0,054	0,050	0,053
	0,053	0,054	0,054	0,053	0,050	0,052
	0,054	0,061	0,049	0,049	0,053	0,051
	0,058	0,062	0,051	0,051	0,052	0,054

19. ANIMAIS DO GRUPO ERALDOR^R - PERÍODO: 21 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,027	0,058	0,039	0,022	0,024	0,031
	0,027	0,018	0,002	0,041	0,028	0,020
	0,028	0,041	0,009	0,028	0,012	0,021
	0,021	0,022	0,062	0,019	0,027	0,022
	0,044	0,022	0,027	0,021	0,032	0,027
02	0,017	0,018	0,022	0,019	0,031	0,044
	0,022	0,032	0,027	0,021	0,020	0,062
	0,018	0,022	0,039	0,024	0,021	0,042
	0,044	0,026	0,028	0,032	0,022	0,027
	0,041	0,023	0,028	0,019	0,027	0,026
03	0,031	0,027	0,027	0,030	0,025	0,028
	0,029	0,023	0,023	0,028	0,023	0,031
	0,027	0,024	0,018	0,027	0,024	0,028
	0,014	0,025	0,024	0,029	0,028	0,027
	0,028	0,027	0,023	0,026	0,027	0,031
04	0,028	0,029	0,027	0,027	0,025	0,025
	0,027	0,028	0,026	0,028	0,027	0,027
	0,026	0,026	0,028	0,027	0,027	0,026
	0,023	0,021	0,023	0,026	0,028	0,031
	0,024	0,027	0,026	0,025	0,023	0,027

20. ANIMAIS DO GRUPO ERAIDOR^R - PERÍODO: 28 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,020	0,009	0,008	0,010	0,010	0,008
	0,008	0,015	0,010	0,009	0,012	0,008
	0,018	0,013	0,012	0,009	0,013	0,009
	0,015	0,009	0,017	0,013	0,014	0,012
	0,021	0,012	0,009	0,015	0,009	0,013
02	0,013	0,019	0,009	0,011	0,005	0,017
	0,017	0,011	0,005	0,012	0,009	0,018
	0,010	0,010	0,009	0,009	0,010	0,012
	0,018	0,013	0,010	0,013	0,014	0,011
	0,012	0,011	0,012	0,010	0,015	0,012
03	0,009	0,009	0,009	0,010	0,012	0,010
	0,010	0,010	0,008	0,012	0,014	0,009
	0,012	0,013	0,014	0,013	0,013	0,012
	0,013	0,012	0,018	0,009	0,009	0,011
	0,008	0,011	0,014	0,010	0,010	0,011
04	0,012	0,008	0,014	0,009	0,011	0,012
	0,011	0,013	0,013	0,012	0,012	0,015
	0,012	0,012	0,012	0,011	0,009	0,013
	0,010	0,012	0,011	0,010	0,012	0,012
	0,007	0,011	0,012	0,012	0,011	0,007