

**ESTUDO COMPARATIVO DOS ANTI-INFLAMATÓRIOS DE
ORIGEM VEGETAL (BROMELINA, ESCINA e PAPAÍNA) EM
CIRURGIA**

JUAN FRANCISCO SINCLAIR ARAÚZ

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campi-
nas, para a obtenção do Grau de
Mestre em Farmacologia.

PIRACICABA
- 1982 -

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

A meus pais, ALBERTO E GENOVEVA,
guias de meus passos, através
da vida, as honras desta con-
quista.

O F E R E Ç O

Ao Prof. Dr. SAMIR TUFIC ARBEX,
a quem agradecemos e devemos
a segura orientação deste traba
balho.

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

- Ao Prof. Dr. Plínio Alves de Moraes, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas, pelo incentivo dispensado àqueles que se dedicam à pesquisa;
- Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Neder, Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, pelo muito que tem feito em prol do ensino e da pesquisa em nossa Faculdade;
- Ao Prof. Dr. Lourenço Bozzo, pela colaboração prestada durante a avaliação microscópica e microfotográfica;
- Aos Colegas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, pela amizade e deferência a nós dispensada;
- Ao Prof. Revaír Bueno de Camargo, pela correção do vernáculo;
- Ao Prof. Ulisses de Oliveira Martins, pelos serviços prestados durante a elaboração deste trabalho;
- Ao Sr. Antonio Quêrcia de Campos, pelas sugestões laboratoriais, durante a fase histológica;
- Ao Sr. Moacir Peetz, pelas sugestões de técnica radiográfica.

E a todos que direta ou indiretamente colaboraram para o bom êxito desta dissertação.

Í N D I C E

	Pág.
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - PROPOSIÇÃO	22
3 - MATERIAL E MÉTODOS	24
4 - RESULTADOS	30
5 - DISCUSSÃO	53
6 - CONCLUSÃO	58
7 - RESUMO	60
8 - SUMMARY	62
9 - RESUMEN	64
10 - BIBLIOGRAFIA	66

1 - INTRODUÇÃO

I - INTRODUÇÃO

A utilização de drogas no combate ao edema e à inflamação ocupa um lugar de destaque na terapêutica moderna, e, nos últimos anos, tem-se acelerado seu desenvolvimento.

O edema é um dos sintomas de uma injúria química, física ou bacteriana ao organismo, cujo conhecimento se perde na história.

SÓFOCLES faz referência ao edema, na sua obra *ÉDIPO REI*, quando faz alusão aos seus membros inferiores, pela tumefação provocada pelo acorrentamento a que foi submetido. PRESTES, 1979 (38).

CELSUS (30 A.C. - 39 D.C.) introduziu os clássicos sinais cardíais da inflamação (dor, rubor, calor, tumor), pela observação clínica. SABBAGH, 1978 (42).

GALENO (129 - 201 D.C.) acrescentou a perda de função e preconizou aplicar unguentos para diminuir o edema. SABBAGH, 1978 (42).

ALBUCASSIS e ALVICENA, em seus tratados de Farmacopéia (Século XIII), propunham a medicação oral a base de camomila, como também, o uso de cataplasmas. PRESTES, 1979 (38).

Em 1938, foi obtido o ácido salicílico, da casca do *Salix alba*, vulgo Salgueiro, e, em 1875 foi preparado o salicilato de sódio, que, empregado como antitérmico no tratamento sintomático da febre reumática, mostrou ser eficaz no

alívio da dor e da tumefação. MILLER, 1978 (31).

Em 1884 , foi sintetizada a fenazona ou antipi_rina, considerada a segunda droga anti-inflamatória, surgindo após outros membros do grupo pirazolônico, a saber: aminopi_rina, melubrina, dipirona e fenilbutazona, todos eles, de poderosa atividade anti-inflamatória. MILLER, 1978 (31).

Em 1891, MARCANO provou que o *Ananas comosus* , vulgao abacaxi, continha enzimas proteolíticas de grande poder anti-inflamatório. MARTIN e cols., 1962 (28).

Nesse mesmo ano, CHITTENDEN separou a bromeli-na do suco do abacaxi, por precipitação com sulfato de amônia, cloreto de sódio e sulfato de magnésio. MARTIN e col., 1962 (28).

Em 1899, foi introduzido o ácido acetil salicí_lico, que suplantou o salicilato de sódio e tornou-se um medi_camento de uso global. PRESTES, 1979 (38).

Por volta de 1900 , ARTAUD DE VEVEY descre -veu o mecanismo de ação de uma saponina, a amirina (obtida do *Aesculus hippocastanum*, vulgarmente conhecida como castanha da Índia), que agia sobre as paredes vasculares. Estes trabalhos levaram à obtenção da escina, também saponina da castanha da Índia), que agia sobre as paredes vasculares. Estes trabalhos levaram à obtenção da escina, também saponina da castanha da Índia. Esta droga tem forte ação antiedematosa. MUSCHER, 1970 (35).

Mais recentemente, tem-se lançado mão de substâncias hormonais na Edemoterapia.

SARRET, em 1945, conseguiu a síntese do hormônio adrenocorticotrófico (ATCH). PRESTES, 1979 (38).

Em 1948, foi descoberta a atividade altamente anti-inflamatória da cortisona. MILLER, 1978 (31).

Em 1955, foi descoberta a prednisona, derivado da cortisona. MILLER, 1978 (31).

Recentemente têm aparecido no mercado tantos a gentes anti-inflamatórios, que seria impossível fererirmo-nos a todos mencionando a data da descoberta, motivo este, que nos leva, mais adiante, a considerar a maioria por grupos químicos.

Com o aprofundamento nos estudos histológicos, e fisiológicos dos fenômenos tissulares, chaga-se a pensar que não se pode tratar, separadamente, um sintoma que ocorre em determinados casos mórvidos, sem que se tenha uma noção do con junto dos fatores que se reúnem para caracterizar um processo patológico.

Pelo motivo exposto, ao tratar de tumefações ou edemas circunscritos, devemos tratar todo o processo inflamatório.

Os processos inflamatórios podem ser: a) **cli-**nicamente: agudos ou crônicos ; b) **histologicamente**: vasculares ou celulares ; e c) **etiologicamente**: imulológicos, in

fecciosos, tóxicos ou traumáticos, ou existir concomitância de alguns ou todos estes fatores etiológicos.

Para uma melhor compreensão do nosso trabalho, devemos fazer uma análise, mesmo sucinta, dos fatores etiológicos supra mencionados.

A - Fatores Imunológicos

O processo se desencadeia pela ação de anticorpos sobre os antígenos, com a produção de linfocina, fator importante na migração dos macrófagos. Toda essa reação conduz a um afluxo maior de humores, alterando a permeabilidade vascular e tissular, com aumento de volume dos tecidos.

B - Fatores Infecciosos

Os microrganismos produzem, como produto de seu metabolismo, toxinas que, agindo sobre polimorfonucleares e macrófagos, permitem a produção de coagulose.

C - Fatores Tóxicos

O mecanismo das inflamações de origem tóxica, assemelha-se ao dos imunológicos e infecciosos, que por ação dos fagócitos, ao agir sobre as substâncias tóxicas, liberam lisosimas que atuam sobre os fatores de coagulação, provocando a formação de cininas e prostaglandinas, que agem sobre a

permeabilidade capilar, modificando o pH, produzindo desequi-
líbrio osmótico com a conseqüente tumefação. PRESTES, 1979
(38).

D - Fatores Traumáticos

Os fatores traumáticos provocam ruptura capi -
lar e celular com liberação de enzimas hidrolíticas e proteo-
líticas, como produto de degeneração do colágeno, ativando a
agregação plaquetária, produzindo afluxo de polimorfonuclea -
res. Neste processo, por lise celular, estão presentes, tam-
bém, a histamina e a serotonina, que juntamente com elementos
cromatínicos desencadeiam a liberação de diversos fatores, com
a produção de prostaglandinas e bradicinina, que agem sobre os
fatores osmóticos e ácido-base. Tudo isso, aliado ao extrava-
samento capilar e ao aumento dos espaços interesticiais, re-
sulta, clinicamente, em tumefação e dor. PRESTES 1978 (38).

No âmbito da Cirurgia Bucal, como decorrência
do trauma cirúrgico desencadeado, ocorre uma inflamação no lo-
cal traumatizado devendo o profissional lançar mão (seleccio-
nar) de drogas antiinflamatórias, que tenham efetividade nes-
te tipo de processo reacional.

O edema, uma das seqüelas decorrentes do pro-
cesso inflamatório, muitas vezes se torna incômodo para o pa-
ciente, devido à dor e à perda da função regional que acarreta.
Nestes casos, em se tratando de cirurgia odontológica, é
de grande importância a utilização de drogas anti-inflamatõ -

rias, quer profilática, quer terapêuticamente, visando reduzir a intensidade da resposta inflamatória, considerando-se que o edema é um excelente meio de cultura bacteriana, podendo facilitar sequelas sépticas pós-operatórias, SABBAGH, 1978 (42).

As drogas anti-inflamatórias devem possuir a propriedade de bloquear, em diferentes graus de intensidade, as reações bioquímicas que ocorrem nos tecidos inflamados, ou ainda, permitir a obtenção, no local, de melhores condições para uma rápida involução das alterações morfológicas provocadas pela inflamação.

Podemos dividir as drogas anti-inflamatórias em três grandes grupos principais, a saber:

- 1 - Esteróides: Constituído por hormônios corticais das supra-renais; hormônio corticotrófico (ACTH), do lobo anterior da hipófise, e os vários produtos sintéticos análogos. SABBAGH, 1978 (42).
- 2 - Enzimáticos (enzimas proteolíticas): Formado pela hialuronidase, tripsina, quimiotripsina, alfaquimiotripsina, estreptoquinase, estreptodornase, bromelinas, papina e escina. SABBAGH, 1978 (42).
- 3 - Não esteróides e não enzimáticos ou substâncias antiflogísticas: Composto pelos derivados salicílicos, pirazolônicos, fenotiazínicos, do ácido mefenâmico, do ácido ni

flūmico, indometacina, benzinamida, os antihistamīnicos e outros. SABBAGH, 1978 (42).

Sempre que seja necessāria a utilizaçāo de um anti-inflamatōrio, devemos levar em consideraçāo uma sērie de fatores que possam induzir ao aparecimento de efeitos colaterais indesejados.

Os esterōides apresentam uma variada gama de efeitos colaterais e nāo sāo aconselhados para o uso odontolōgico, jā que, ponderando as seqüelas que podem desencadear, sua validade terapeutica torna-se assunto duvidoso.

Alguns dos efeitos colaterais dos esterōides , sāo: cataratas, urticāria, pūrpura, reaçōes anafilactōides , aumento do tempo de coagulaçāo, pseudo-tumor cerebral, bloqueio da cortisona pelo ACTH, que pode levar as supra-renais ao colāpso, espoliaçāo do potāssio com retençāo de sōdio, reduçāo da sīntese de mucopolissacarīdios no tecido de granulaçāo, retardando a cicatrizaçāo, impedem a proliferaçāo dos fibroblastos, reduçāo da resposta antīgeno-anticorpo, linfocitopenia, reduçāo da resistēncia ā infecçāo com agravamento de molēstias a virus, acidose, hipersecreçāo gāstrica, alteraçāo do metabolismo glicīdico, que pode levar ā hiperglicemia, etc.

MILLER, 1978 (31), na sua revisāo sobre analgēticos e anti-inflamatōrios nāo esterōides, ressalta que os salicīlicos, quando usados em doses baixas sāo praticamente inōcuos, mas que, em doses elevadas, podem ocasionar numerosos efeitos tōxicos, tais como: nāusea, vomitos, dermatite, tini-

do, surdez, vertigem, melena, acidose, hipocoagulabilidade sanguínea, confusão mental, alucinações, delírio e coma.

Os derivados pirazolônicos podem causar náusea, dor epigástrica, erupções cutâneas, edema, estomatite, hemorragias, ativação de úlcera péptica, hepatite tóxica.

Os derivados do aminofenol têm efeitos secundários semelhantes aos salicílicos.

Os derivados do ácido flufenâmico podem provocar o aparecimento de alterações do tracto gastro-intestinal, tais como, náusea, vômitos e diarreias, em aproximadamente 15% dos casos.

A indometacina pode causar tonturas, cefaléia, vômitos e perturbações psíquicas, que podem impedir a continuação do tratamento em cerca de 35% dos casos.

O ácido metiazínico pode provocar náusea, gastralgia, vômitos e diarreias. MILLER, 1978 (31).

PRESTES, 1979 (38), diz que as enzimas proteolíticas têm sido o produto farmacológico que melhores resultados têm apresentado no tratamento de edemas, e que, apresentam bom desempenho e relativa tolerância, em comparação com outros fármacos ; ressalta porém, que neste grupo, a tripsina, quimiotripsina, estreptoquinase e estreptodornase, por afinidade com elementos constituintes do plasma e soro, podem alterar o sistema imunológico, produzindo sensibilidade e ocorrências de idiosincrasias.

A seguir faremos algumas considerações, que reputamos oportunas, no que diz respeito aos anti-inflamatórios enzimáticos de origem vegetal, de grande aplicação em odontologia.

Papaína: É uma protease sulfidrídica obtida do latex da *Carica papaya*, planta dicotiledônea vulgarmente conhecida pelo nome de mamão.

A papaína apresenta uma cadeia polipeptídica de 211 resíduos, dobrada em duas partes nitidamente separadas por uma fenda, com o sítio ativo localizado na superfície da fenda. DRENTH e col., 1968 (7).

Tem um sítio grupamento sh essencial na ação da enzima. Os resíduos histidina e triptofano estão envolvidos com, ou perto do sítio ativo, e, a perda do triptofano causa sua inativação. SAKANE e col., 1976 (43).

A papaína é considerada uma proteína simples, básica.

As preparações comerciais da papaína tem três formas da enzima: 1) enzima ativa ; 2) enzima inativa, ativável ; 3) enzima inativa, não ativável. GLICK e col., 1976 (13).

A papaína é obtida por precipitação, utilizando cloreto de sódio e pela cromatografia de afinidade do precipitado redissolvido. BURKE e cols., 1974 (2).

Alguns autores consideram a Papase* um medicamento seguro, que permite uma reparação física e psicológica mais rápida que no grupo controle, pois tem ação inibidora do edema e da inflamação. MAGNES, 1966 (25).

THOREK e col., 1974 (52), referem que, mesmo observando menor grau de inflamação, nos pacientes tratados com papaína, quando comparados com o grupo controle, a diferença foi considerada estatisticamente insignificante.

MARTIN e cols., 1957 (27), ao efetuar estudos comparativos com outros anti-inflamatórios, achou que tanto a tripsina quanto a quimiotripsina são mais efetivos que a papaína.

CACI, 1966 (3), fez estudos sobre a ação anti-edematosa da papaína, comparada com a prednisolona e verificou que essa ação é semelhante entre as drogas, mas que a papaína era menos eficaz na diminuição da dor e do trismo, resultantes de casos pós-operatórios de pacientes submetidos a extrações de sisos.

No que diz respeito à segurança da papaína, existe um grande número de informações que levam a concluir que a papaína é de grande toxicidade.

McCLUSKEY e cols., 1958 (30) verificaram que a papaína causa alterações na matriz de cartilagem, "in vivo", em experiências efetuadas em coelhos.

Em 1959 , ENGFELDT e cols. (8), comprovaram que em cães jovens, a papaína provocava alterações na cartilagem epifisial, causando danos consideráveis nas células em proliferação, nas hipertróficas e, alterava a matriz ; necrose e epifisiólise, na região limite entre epífise e metáfise ; mas que a papaína tinha essa seletividade pela cartilagem dos cães em crescimento e não pela cartilagem de cães adultos. Comprovaram, também, que em coelhos, a papaína causa necrose das fibras musculares, inclusive as cardíacas e diafragmáticas.

MERKOW e col., 1961 (29), verificaram que a papaína produz fechamento prematuro da placa epifisiária, com retardamento no crescimento longitudinal dos ossos longos ; prova, também, rigidez da coluna vertebral e malformações do tórax. Aparentemente estas malformações decorrem da clivagem do condroitinsulfato da cartilagem, pois há um aumento desse componente na urina do animal de laboratório, após injeção de papaína.

A papaína inalada em pequenas doses, provoca enfisema em hamsters, coelhos e cachorros. SNIDER e cols. , 1974 (50).

MILNE e col., 1974 (32), verificaram que também causa reações asmáticas agudas e enfisemas pulmonares quando a papaína é inalada.

KVINNSLAND, 1974 (19), comprovou que em ratos, em crescimento, submetidos a doses repetidas da papaína, esta droga, agindo sobre a cartilagem, causava redução do cresci -

mento crânio-facial e que age também sobre zonas de crescimento epifisial em coelhos, gatos, ratos, cães e camundongos.

Escina: É uma mistura de glucosídeos e rahnno-sídeos obtida do *Aesculus hippocastanum*, vulgo castanha da Índia. WAGNER, 1967 (57), em forma de extrato primário líquido, o qual é, em seguida, submetido a transporte, através de um sistema especial de intercambiadores de cátions, para se obter a transformação da escina em escinato de potássio.

A escina cristalina é praticamente insolúvel em água, à temperatura ambiente, sendo esse o motivo de sua transformação em escinato de sódio.

Age fechando os capilares, inibindo os processos de transudação capilar de líquidos característicos do estado exsudativo inicial de uma inflamação, enquanto a reação reparadora fibroblástica, com formação de tecido de granulação, típica do estado tardio da inflamação, não é influenciada pela escina.

A absorção da escina pelo tracto gastro-intestinal é pequena e muito pouco metabolizada, sendo excretada pela bilis em 2/3 e pela urina em 1/3. LANG e MENNICKE, 1972 (20).

O efeito inibitório que a escina causa, com referência ao edema e à inflamação, foi constatada por EVERS - MANN, 1960 (9) ; GIRERD e col. , 1961 (12) ; STRUWE e col. , 1963 (51) ; SCHILLI e col. , 1964 (46) ; MUSCHER, 1970 (35) ;

HEFTI e col., 1975 (15) ; PRESTES, 1979 (38) e GOLDENBERG e col., 1979 (14).

SIERING, 1962 (47), verificou que a escina modificava a capacidade exsudativa da membrana celular, alterando o equilíbrio sódio-potássio, liberando potássio e retendo sódio. Em 1961, esses autores já tinham estabelecido que a escina provocava uma variação da permeabilidade capilar.

A escina precisa de um tempo de latência de algumas horas. Para ter efeito, quando administrada por via oral, deve-se iniciar a medicação pelo menos 24 horas antes da intervenção cirúrgica.

LUCAS, 1963 (22), observou que em doses de até 10 mg por dia, a escina apresenta boa tolerância, sem que haja manifestações alérgicas.

Em 1968, MAGLIULO e cols. (24), verificaram que mesmo que a escina induzia a uma diminuição da celularidade dos exsudatos, especialmente com relação ao número de macrófagos, não havia alteração na velocidade de locomoção e índice fagocítico das células inflamatórias, e que não tinha efeitos indesejados sobre a medula óssea.

GOLDENBERG e col., 1979 (14), afirmam que a escina não provoca alterações patológicas nos tecidos, nem comprometimento hemolítico, nem teratogênicos.

WILHELM e col., 1977 (59) verificaram que a escina é altamente efetiva na redução de edemas pós-operatórios.

Em 1970, VOGEL e cols. (56), em pesquisas laboratoriais, acharam que a escina provocava toxicidade aguda, com a morte do animal, devido à intensa hemorragia, quando usada em doses elevadas e, também, apresentava toxicidade crônica, com morte dos animais, quando utilizada em tratamentos longos, com doses pequenas, provavelmente pela atividade tóxica cerebral da escina.

LOCKS, 1974 (21) verificou que a escina provoca uma contração lenta e irreversível das veias (em bovinos e humanos) quando usada em doses elevadas.

KOBERG, 1968 (18), em pesquisas realizadas com pacientes, achou que a escina tem efeito inibitório do edema, mas teve 4% dos pacientes que apresentaram sinais de intolerância gástrica.

EVERSMANN, 1960 (9), verificou, em pacientes, o efeito antiedematoso da escina. Teve, entre 140 pacientes, um caso de exantema alérgico atribuído à droga e um caso de forte sensação de vômito.

Bromelinas: São 4 (quatro) enzimas proteolíticas muito semelhantes, obtidas do caule e fruta da planta monocotiledônea *Ananas comosus*, vulgo abacaxi, e, pelo fato de serem parecidas, podem ser estudadas como uma só entidade. MARTIN e cols., 1962 (28).

A bromelina é uma glicoproteína básica de peso molecular 28.400 ± 1.400 , que se apresenta como uma cadeia

polipeptídica simples, aparentemente homogênea. WHARTON, 1974 (58).

REIGH, 1976 (39), determinou que no sítio ativo tem um resíduo cisteína, e que o grupamento sulfidrilo participa da hidrólise pēptica.

YAMADA e cols, 1976 (60), verificaram que sua sequencia amino terminal é a seguinte: Ala - Val - Pro - Gln - Ser - Ile - Asp - Trp - Gly - Ala e o resíduo cisteína é composto por: Asn - Glx - Asn - Pro - Cys - Gly - Ala - CYS.

MARTIN e cols., 1962 (28), manifestam que a bromelina pode ser obtida por precipitação com sulfato de amônio, cloreto de sódio e sulfato de magnésio.

MURACHI e col., 1964 (34), obtiveram bromelina mais pura, pela cromatografia de intercâmbio iônico, filtração de gel e fracionamento com sulfato de amônio.

COOREMAN e cols., 1974 (5) purificaram a bromelina de caule pela cromatografia de afinidade.

As bromelinas agem sobre diversos substratos, conforme o pH e sobre todos os materiais protéicos. MARTIN e col., 1962 (28).

Pode ser ativada pela cisteína, colina, sulfeto de hidrogênio, cianeto de sódio, e é inibida pelo diisopropilfluorofosfato e íons de metais pesados, tais como mercúrio, cobre e prata. HEINICKE, 1959 (16) ; MARTIN e cols., 1962 (28) ; DEMARTIN, 1976 (6).

Trabalhos de muitos autores referem que as bromelinas reduzem edemas e inflamações, dos quais mencionaremos: NEUBAUER, 1961 (36) ; MARTIN e cols., 1962 (28) ; GIACCA, 1964 (11) ; SIRTORI, 1964 (48) ; CIRELLI, 1964 (4) ; MAMMARELLA, 1964 (26) ; PEREGALLI, 1964 (37) ; SELTZER, 1964 (45) ; SMYTH e cols., 1964 (49) ; FATINI, 1967 (10) ; DEMARTIN, 1972 (6) ; HEINICKE e cols., 1972 (17) ; RUSSOLO, 1972 (41) ; MADER, 1973 (23).

MARTIN e cols., 1962 (28), comprovaram que em condições iguais de dosagem, as bromelinas são superiores aos outros anti-inflamatórios, tais como a papaína, proteases de fungos, tripsina, etc.

SELTZER, 1964 (45), em pesquisas com pacientes, verificou que a bromelina é mais segura que outros anti-inflamatórios.

NEUBAUER, 1961 (36), em pesquisas laboratoriais observou que animais tratados somente com bromelinas reagem da mesma forma, em se tratando de inibição de edema e inflamação, que os tratados com antibióticos, mas que, quando coadjuvados (bromelina + antibiótico) a resposta era melhor.

VESPA, 1966 (55) verificou que, em pacientes odontológicos, ao associar a bromelina com a tetraciclina, havia uma maior eficácia terapêutica que nos casos de uso da tetraciclina isoladamente.

RENZINI e VARENGO, 1972 (40), comprovaram que a bromelina potencia os antibióticos em aproximadamente 200% e que o antibiótico atingia níveis séricos mais elevados e permaneciam nos fluídos orgânicos por muito mais tempo.

A bromelina reduz consideravelmente o tempo de recuperação dos pacientes. NEUBAUER, 1962 (36) ; MARTIN e cols., 1962 (28) ; DEMARTIN, 1972 (6) ; SIRTORI, 1964 (48) ; VESPA, 1966 (55).

Quando administrada por via oral, apresenta uma elevada absorção. SEIFERT e cols., 1979 (44).

TOMAINO e cols., 1967 (53), comprovaram que a bromelina atravessa a barreira intestinal, principalmente a nível do intestino ceco, como proteína íntegra e não desnaturada.

USCAVAGE, 1966 (54), verificou que, como todas as enzimas proteolíticas absorvidas pelo tracto gastro-intestinal, a bromelina provoca uma produção de anticorpos específicos.

SMYTH e cols., 1964 (49), observaram que, uma vez atravessada a barreira intestinal, a bromelina é levada ao local da inflamação, associada a uma macromolécula do soro (2/3) e pelos eritrócitos (1/3), onde passa a fibrina, com a qual tem maior afinidade.

MARTIN e cols., 1962 (28), verificaram que, no local da inflamação, diminui a viscosidade do exsudato, pelo

despolimerização da fibrina "mole", permitindo a normalização da drenagem.

MAMMARELLA, 1964 (26) refere que a bromelina tem uma ação particularmente intensa e eficaz na resolução do edema, sem agir sobre o fibrinogênio, não interferindo portanto, com o mecanismo de coagulação.

Estudos de HEINICKE e cols., 1972 (17) provam que a bromelina inibe também as proteases lisossômicas liberadas no local da injúria e reduz os valores de agregação plaquetária, diminuindo os riscos de trombo-embolias.

MARTIN e cols., 1962 (28), declaram que a bromelina dissolve a fibrina por meio de dois mecanismos: 1) agindo sobre o sistema fibrinogênio - fibrina, direta e especificamente sobre a fibrina ; 2) por ação sobre o sistema plasminogênio - plasmina, ativando a fibrinolisisina.

Ao diminuir o edema há, conseqüentemente, uma diminuição da dor, pela menor compressão das terminações nervosas, mas a bromelina age, ainda, antagonizando a capacidade da bradicinina em provocar a dor. BODI, 1966 (1).

YAMADA, e cols., 1976 (60), verificaram que a bromelina cliva a bradicinina entre Gly - Phe e entre Phe - Ser, inativando-a.

MINESHITA e col., 1970 (33), observaram que a presença de edema pulmonar, provocada por adrenalina, era prevenida pela bromelina, ao contrário da papaína, que a provoca.

NEUBAUER, 1961 (36) ; GIACCA, 1964 (11) ; PERE GALLI, 1964 (37) ; SIRTORI, 1964 (48), e outros, demonstraram que a bromelina é otimamente aceita pelo tracto gastro-intestinal e que não provoca nenhum efeito colateral indesejável , e, FATINI, 1964 (10) afirma que é inocua , mesmo em doses elevadas.

MARTIN e col., 1962 (28), em estudos laboratoriais, demonstraram que a bromelina administrada por via oral não apresentava DL_{50} , em ratos e camundongos, e que mesmo em doses elevadíssimas, de até 10 gramas por quilo de peso, nenhum efeito desagradável foi observado, com relação à toxicidade aguda. Por via intravenosa o DL_{50} , para camundongos é de 30 a 35 mg/kg e para coelhos 20 mg/kg, e por administração intraperitonal é de 36,7 mg/kg, para camundongos e de 85,2 mg/kg para ratos, doses estas muito elevadas, em comparação com outros anti-inflamatórios.

A toxicidade crônica foi testada dando 1,0% de bromelina, por via oral, durante três meses, não havendo alterações de peso significantes entre os animais tratados e os animais do grupo controle. MARTIN e cols., 1962 (28).

Também não houve alterações, nas patas e focinhos, como ocorreu nos casos tratados com tripsina ou quimiotripsina.

SELTZER, 1964 (45), encontra que a bromelina, a têm de ser um ótimo antiinflamatório, apresenta as qualidades de ser fácil de administrar, barato, abundante e fácil de se obter.

2 - PROPOSIÇÃO

2 - PROPOSIÇÃO

No presente trabalho, visamos fazer uma comparação no que diz respeito à resposta orgânica (no lugar do trauma) com referência à recuperação do tecido, quando usamos anti-inflamatórios de origem vegetal, a saber: **Bromelina, Escina e Papaína.**

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3 - MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho, foram testadas algumas drogas de origem vegetal, em ratos (*Rattus norvegicus*, *albinus*, var. Winstar) adultos, de ambos sexos, fornecidos pelos biotérios da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas.

Materiais Utilizados:

- Balança de laboratório (mg)
- Seringas de 1 ml com agulha hipodérmica 40:6
- Bisturi
- Lâminas para bisturi (descartáveis)
- Campânula de vidro, para anestesia por inalação
- Tesoura cirúrgica
- Pinça cirúrgica
- Filmes radiográficos
- Filmes fotogrâficos
- Lâminas
- Lamínulas
- Microscópio.

Drogas Utilizadas:

- Bromelina
- Escina
- Papaína
- Solução salina 0,8%
- Éter sulfúrico
- Parafina

- Hematoxilina - eosina
- Ácido tricloroacético

Doses das Drogas Administradas:

As doses a serem administradas foram calculadas, seguindo como padrão as especificações dos fabricantes no que diz respeito ao emprego pelo homem, extrapolando a porcentagem por peso, para o animal.

Assim obtivemos de:

Escina: 1,143 mg/kg por dia (*)

Bromelina: 2,286 μ /kg para o 1º dia e 1,143 μ /kg para os segundos

Papaína: 2.286 μ /kg para o primeiro dia e 1,143 /kg a seguir.

(*) Escina: Fornecida pelo Laboratório Lorenzini (Reparil).

Bromelina: Fornecida pelo Laboratório Sintofarma, em pó cristalizado.

Papaína: Obtida através do Tromasin*, produzido pelo Laboratório Warner.

Preparação dos Animais

Os animais, em número de 35, foram divididos em quatro grupos, assim denominados:

- Grupo 1 - 5 animais controle que receberam solução sa
lina a 0,8%
- Grupo 2 - 10 animais tratados com bromelina
- Grupo 3 - 10 animais tratados com escina
- Grupo 4 - 10 animais tratados com papaína.

Pesagem dos Animais

No início da experiência e a cada 24 horas foi feita a pesagem dos animais.

Anestesia

Os animais foram submetidos à anestesia geral, por inalação de vapores de éter sulfúrico, sob campânula de vidro.

Fratura Mandibular

Provocou-se fratura mandibular entre os incisi
vos inferiores, utilizando bisturí com lâmina nº 15.

Injeção das Drogas

As drogas em estudo (bromelina, escina e papaí
na) foram aplicadas intraperitonealmente em três grupos de a-
nimaís, sendo que, no grupo considerado controle, os animais

foram injetados com solução salina a 0,8% , em intervalos de 24 horas.

Sacrifício dos Animais

Os animais foram sacrificados por meio de vapores de éter sulfúrico, sob campânula de vidro.

Dissecação da Mandíbula

Foi efetuada a dissecação da mandíbula, fraturando no corpo mandibular (ambos os lados) logo antes da região dos molares.

Radiografias

Foram feitas radiografias padronizadas numa única sessão, com angulagem, distância focal, voltagem e amperagem iguais, sendo que a revelação foi simultânea. A finalidade destas radiografias foi verificar a homogeneidade das fraturas provocadas.

Descalcificação

Todas as peças foram descalcificadas utilizando-se o ácido tricloroacético a 6%.

Inclusão e Coloração

As peças foram incluídas em parafina, cortadas com espessura de 7 micras e coradas com Hematoxilina / Eosina, seguindo-se a técnica normal.

4 - RESULTADOS

4 - RESULTADOS

Apresentaremos a seguir os resultados obtidos no presente trabalho, pela análise microscópica das regiões operadas.

Na Figura 1.1 podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal do grupo controle, aos três dias após a cirurgia.

A microfotografia nos mostra uma área de necrose extensa, nas regiões assinaladas.



FIGURA 1.1 - Animal do grupo controle, três dias após a cirurgia.

Na Figura 1.2 podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com bromelina, três dias após a cirurgia.

Observamos pela microfotografia, área extensa de necrose conforme assinalado.

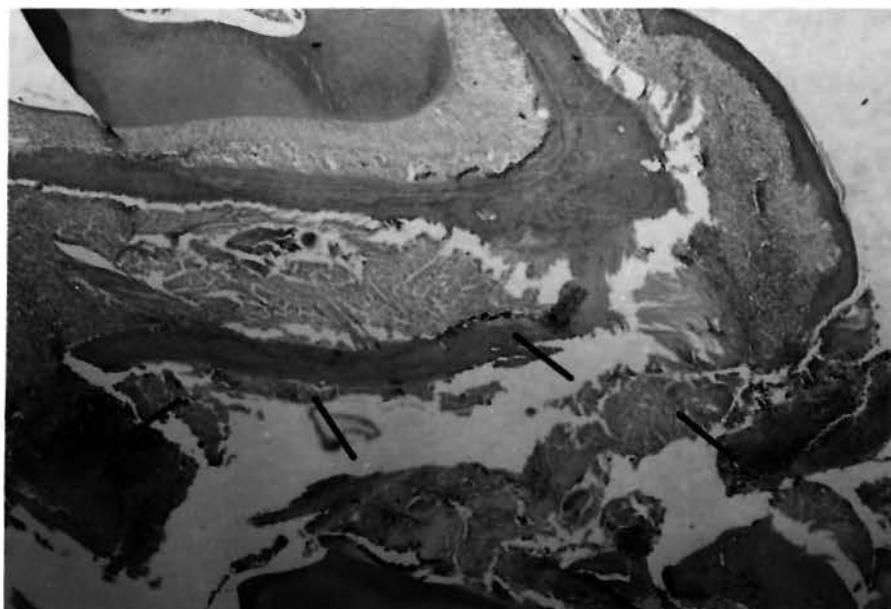


FIGURA 1.2 - Animal tratado com bromelina, três dias após a cirurgia

Na Figura 1.3 podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com escina, aos três dias após a cirurgia.

Verificamos nesta fotografia, uma área de necrose a nível da crista óssea, conforme o assinalado.

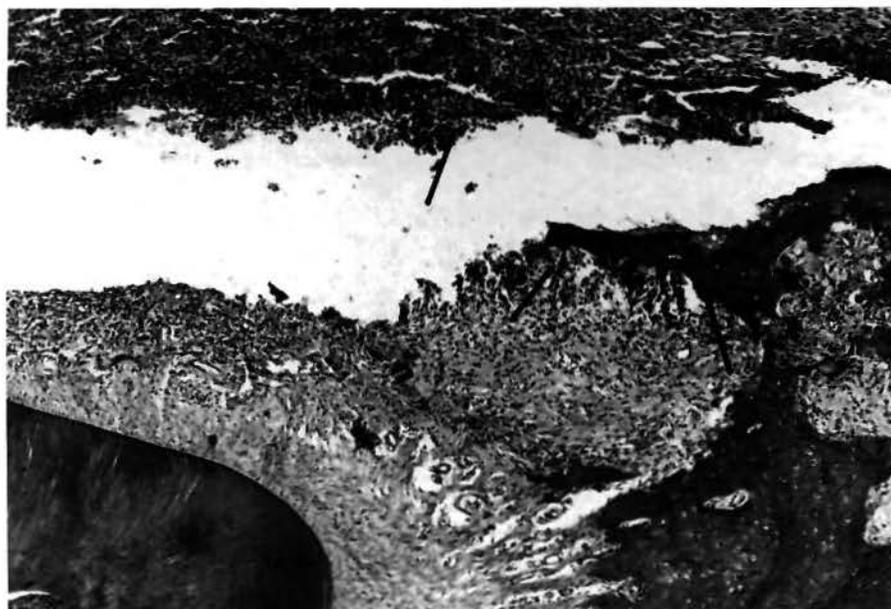


FIGURA 1.3 - Animal tratado com escina, três dias após a cirurgia

Na Figura 1.4 podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com papaína, aos três dias após a cirurgia.

Observamos por esta fotografia, uma extensa área de desagregação tecidual com características de necrose conforme o assinalado.



FIGURA 1.4 - Animal tratado com papaína, três dias após a cirurgia

Na Figura 2.1, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal do grupo controle, aos seis dias após a cirurgia.

Podemos observar, pela microfotografia, área de necrose e reabsorção óssea na região da crista, conforme assinalamos.

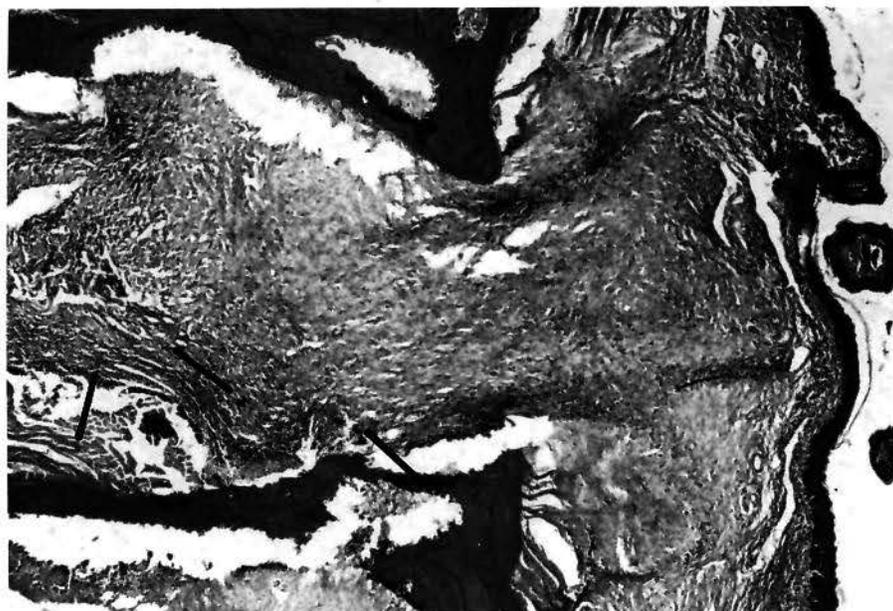


FIGURA 2.1 - Animal do grupo controle, seis dias após a cirurgia

Na Figura 2.2, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com bromelina, aos seis dias após a cirurgia.

Esta fotografia nos mostra áreas de necrose e reabsorção óssea a nível da crista, conforme o assinalado.

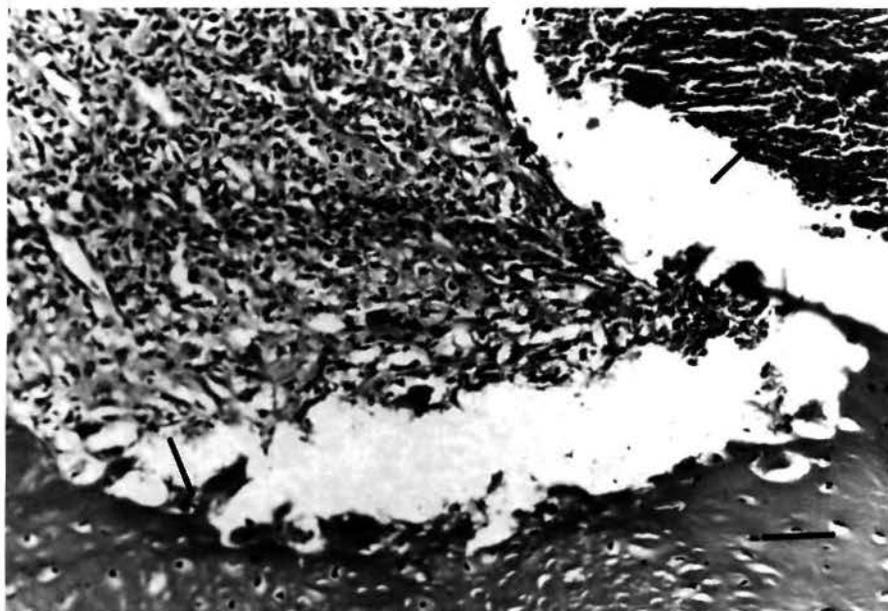


FIGURA 2.2 - Animal tratado com bromelina, seis dias após a cirurgia

Na Figura 2.3, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com escina, aos seis dias após a cirurgia.

Assinalamos extensa área de necrose, e também reabsorção óssea nesta microfotografia.



FIGURA 2.3 - Animal tratado com escina, seis dias após a cirurgia

Na Figura 2.4, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com papaína, aos seis dias após a cirurgia.

A fotografia nos mostra área necrosada, fratura e reabsorção no rebordo ósseo, conforme o assinalado.



FIGURA 2.4 - Animal tratado com papaína, seis dias após a cirurgia

Na Figura 3.1, podemos verificar o corte histológico da região operada de um animal do grupo controle, nove dias após a cirurgia.

Nesta fotografia podemos observar área de necrose e reabsorção da crista óssea, conforme o assinalado.

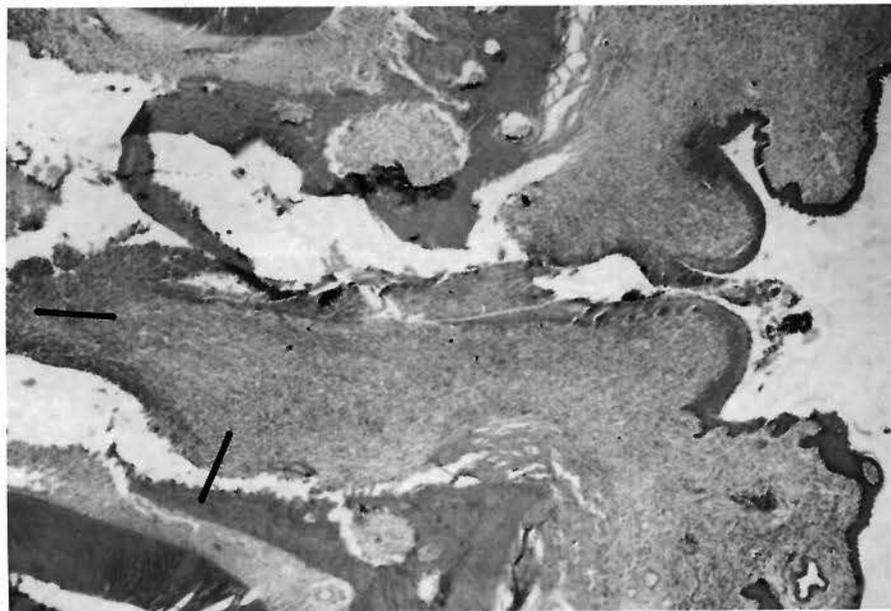


FIGURA 3.1 - Animal do grupo controle, nove dias após a cirurgia

Na Figura 3.2, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com bromelina, nove dias após a cirurgia.

Nesta microfotografia, podemos observar área de neoformação óssea definida e intensa proliferação de fibras de colágeno, conforme assinalamos.



FIGURA 3.2 - Animal tratado com bromelina, nove dias após a cirurgia

Na Figura 3.3, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com escina, aos nove dias após a cirurgia.

Esta microfotografia nos mostra uma extensa área de proliferação de fibras de colágeno, conforme assinalamos.

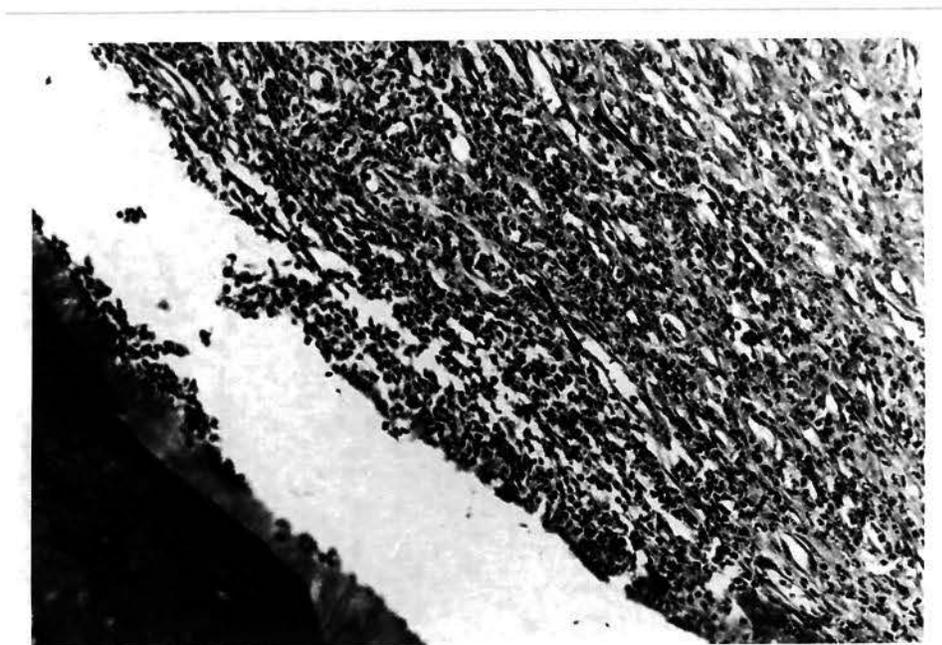


FIGURA 3.3 - Animal tratado com escina, nove dias após a cirurgia

Na Figura 3.4, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com papaína, aos nove dias após a cirurgia.

Nesta microfotografia, podemos observar discreta proliferação de fibras de colágeno, nas áreas assinaladas.



FIGURA 3.4 - Animal tratado com papaína, nove dias após a cirurgia

Na Figura 4.1, podemos verificar o corte histológico da região perada, de um animal do grupo controle aos 12 dias após a cirurgia.

Podemos observar pela fotografia, área de proliferação de fibras colágenas, conforme assinalamos.

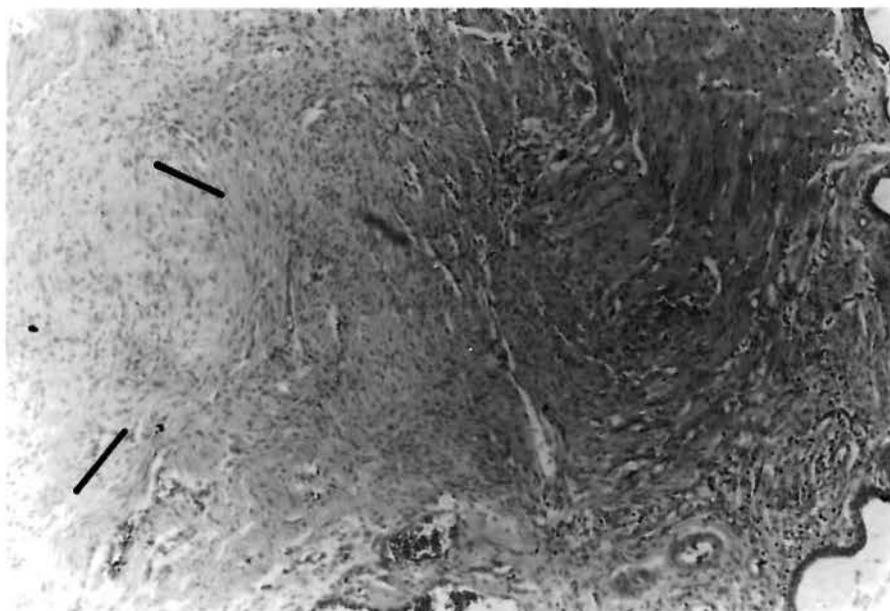


FIGURA 4.1 - Animal do grupo controle, doze dias após a cirurgia

Na Figura 4.2, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com bromelina, aos doze dias após a cirurgia.

A fotografia mostra intensa atividade osteogênica e proliferação de fibras de colágeno, em todo o campo, conforme assinalamos.



FIGURA 4.2 - Animal tratado com bromelina, doze dias após a cirurgia

Na Figura 4.3, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com escina, aos doze dias após a cirurgia.

Podemos observar, nesta fotografia, áreas de intensa atividade osteogênica, conforme o assinalado na mesma.



FIGURA 4.3 - Animal tratado com escina, doze dias após a cirurgia

Na Figura 4.4, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com papaína, aos doze dias após a cirurgia.

Esta microfotografia nos mostra áreas de osteogênese, nas áreas assinaladas.



FIGURA 4.4 - Animal tratado com papaína, doze dias após a cirurgia

Na Figura 5.1, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal do grupo controle, aos quinze dias após a cirurgia.

Podemos observa, pela fotografia, área de atividade osteogênica, conforme assinalamos.



FIGURA 5.1 - Animal do grupo controle, quinze dias após a cirurgia

Na Figura 5.2, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com bromelina, aos 15 dias após a cirurgia.

Nesta fotografia podemos observar intensa neoformação óssea conforme assinalamos.

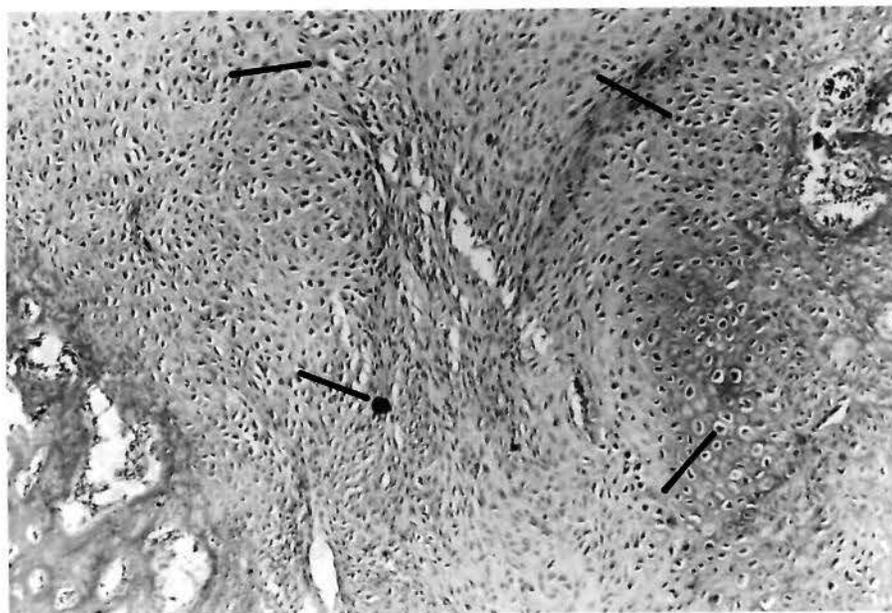


FIGURA 5.2 - Animal tratado com bromelina, quinze dias após a cirurgia .

Na Figura 5.3, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com escina, aos quinze dias após a cirurgia.

Esta fotografia mostra área de intensa atividade de osteogênica, conforme assinalamos.

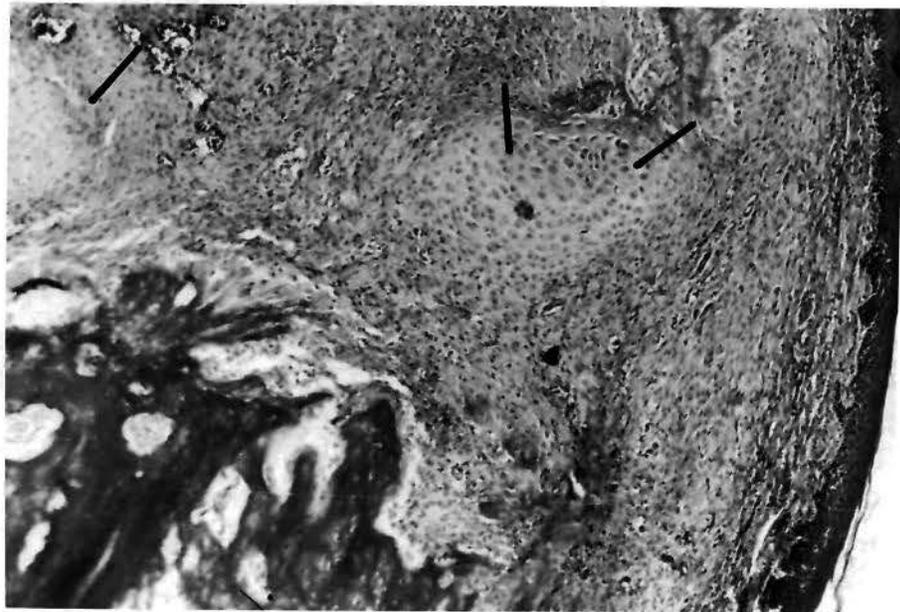


FIGURA 5.3 - Animal tratado com escina, quinze dias após a cirurgia

Na Figura 5.4, podemos verificar o corte histológico da região operada, de um animal tratado com papaína, aos quinze dias após a cirurgia.

Podemos observar, pela microfotografia, áreas de intensa neoformação óssea, conforme assinalamos.



FIGURA 5.4 - Animal tratado com papaína, quinze dias após a cirurgia

Pelos resultados obtidos e apresentados, podemos verificar na Tabela 1, uma comparação da involução da injúria, dos grupos que receberam os anti-inflamatórios e o grupo controle.

TABELA 1 - Quadro comparativo da involução da injúria provocada em animais, e tratados com drogas antiinflamatórias de origem vegetal (bromelina, escina e papaína), utilizadas durante os primeiros quinze dias após a cirurgia, comparados com o grupo controle

Dias	Drogas			
	Controle	Bromelina	Escina	Papaína
3	Necrose	Necrose	Necrose	Necrose
6	Necrose e reabsorção óssea	Necrose e reabsorção óssea	Necrose e reabsorção óssea	Necrose e reabsorção óssea
9	Necrose e reabsorção óssea	Neoformação óssea e proliferação de fibras colágenas	Proliferação de fibras colágenas	Discreta proliferação de fibras colágenas
12	Proliferação de fibras colágenas	Intensa neoformação óssea	Intensa neoformação óssea	Neoformação óssea
15	Neoformação óssea	Intensa neoformação óssea	Intensa neoformação óssea	Intensa neoformação óssea

5 - DISCUSSÃO

5 - DISCUSSÃO

Foi possível verificar, no presente trabalho, que tanto os animais do grupo-controle, quanto os animais tratados com bromelina, escina e papaína apresentavam, ao 30 dia após o trauma cirúrgico, condições muito semelhantes. Podemos observar, claramente, extensas áreas de necrose e desorganização tecidual, como também, regiões de inflamação com grande número de fagócitos. Consideramos, portanto, que ao 30 dia, não havia diferença significativa entre nenhum dos casos tratados com as drogas em estudo (bromelina, escina e papaína), nem entre estes e nem em comparação ao grupo-controle.

Ao 60 dia após o trauma, o quadro geral dos animais já demonstra alterações consideráveis, caracterizadas por reabsorção da crista óssea, com extensas áreas de necrose nas regiões interdentárias, em comparação ao quadro apresentado ao 30 dia. Mas, ainda não apresenta diferença significativa na evolução do processo reparador, quando comparados entre si, os animais tratados com as drogas em estudo, nem quando comparados com os animais do grupo-controle.

A partir do 90 dia, porém, já foi possível verificar diferenças entre os animais do grupo-controle e os tratados com a bromelina, a escina e a papaína. Observamos, contudo, que os animais do grupo-controle apresentavam quase as mesmas condições observadas no 60 dia e, por ordem proporcionalmente inversa aos das drogas utilizadas, temos que:

- Os animais tratados com papaína apresentaram uma fase reparadora caracterizada por uma discreta proliferação de fibras de colágenos, na região interdental (Figura 3.4).
- Os animais tratados com a escina apresentavam uma extensa área de proliferação de fibras de colágeno, que atingia toda a região interdental, ocupando o espaço compreendido entre duas cristas ósseas, em um estágio mais avançado que o dos animais tratados com papaína (Figura 3.3).
- Observando os cortes histológicos dos animais tratados com a bromelina, constatamos uma intensa proliferação de fibras de colágeno, na região interdental, com um processo avançado de neoformação óssea, que se estendia da crista óssea até a região central. O processo de recuperação dos animais tratados com a bromelina, apresentava um estágio bem mais avançado que o dos animais tratados com a escina, a papaína e o grupo-controle (Figura 3.2).
- Analisando os resultados do processo de reparação nos animais do grupo-controle, aos doze dias após ao trauma cirúrgico, defrontamo-nos com extensas áreas de proliferação de fibras de colágeno, abrangendo toda a região da cirurgia (Figura 4.1).
- Os animais tratados com a papaína apresentavam um estágio mais avançado de recuperação, quando comparados com os animais do grupo-controle, com áreas de neoformação óssea invadindo discretamente o espaço interdental (Figura 4.4).

- Ao examinarmos os cortes histológicos dos animais tratados com a escina, foi-nos possível observar uma diferença marcante, em relação aos grupos acima citados. Apresentavam intensa atividade osteogênica, estendendo-se a ambos os lados do trauma cirúrgico (Figura 4.3).
- Os animais tratados com a bromelina apresentaram, em toda a região interdental, extensa e intensa atividade osteogênica com núcleos de proliferação e invasão óssea em todo o campo e, esparsas fibras de colágeno (Figura 4.2).
- No 15º dia, o corte histológico dos animais do grupo-controle, apresentavam áreas de intensa atividade osteogênica.
- Os animais tratados com papaína apresentaram uma fase de recuperação mais adiantada que os do grupo controle, com extensa proliferação óssea, desde a crista até a região interdental.

Ao examinarmos os cortes histológicos dos animais tratados com a escina, foi-nos possível observar proliferação e formação de núcleos ósseos em toda a região interdental, num estágio mais adiantado de recuperação que os animais tratados com papaína e os do grupo controle. Quando examinamos, porém, os cortes histológicos dos animais tratados com a bromelina, aos quinze dias após o trauma cirúrgico, ficou evidenciado que todo o campo estava ocupado por células ósseas,

chegando a ocupar toda a região do trauma, num quadro que caracteriza uma melhor recuperação no local do trauma cirúrgico, que a de todos os outros grupos experimentais.

Iniciamos um controle diário de peso, acreditando que poderíamos ter mais um ponto de comparação ou referência quanto à recuperação geral dos animais, quando lhes eram aplicadas, intraperitonealmente, as drogas em estudo e, ao grupo controle, aplicar-mos pela mesma via, apenas solução fisiológica. Entretanto, tivemos que desprezar esta fase de controle, tendo em vista que a escina provou ser uma droga altamente diurética, o que invalidava toda e qualquer comparação.

6 - CONCLUSÃO

6 - CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, concluimos que:

- a - Todos os enzimas proteolíticos de origem vegetal aceleram o processo de reparação.
- b - O tempo de recuperação dos animais tratados com bromelina e escina é menor que o dos animais tratados com papaína.
- c - O efeito da bromelina é igual ou maior que o da escina, porém muito maior que o da papaína.

7 - RESUMO

7 - RESUMO

No presente trabalho, foi investigada, a atividade reparadora do osso mandibular de ratos, a altura da sínfise, quando intervidas cirurgicamente e sob efeito de anti-inflamatórios de origem vegetal (bromelina, escina e papaína).

Os antiinflamatórios em estudo foram aplicados, intraperitonealmente, em dosagens semelhantes às indicadas para o homem (1,143 /kg) diariamente, durante quinze dias.

Verificou-se que os animais tratados com bromelina e escina tiveram uma recuperação mais rápida que os animais tratados com papaína e os do grupo controle. Não houve diferença significativa na reparação óssea entre os animais tratados com bromelina e escina, a não ser uma diferença de tempo muito reduzida favorecendo a bromelina, havendo contudo, uma recuperação bem mais rápida do peso geral dos animais tratados com bromelina, causada, talvez, pela atividade diurética de escina.

Os animais tratados com a papaína tiveram um tempo de recuperação menor que os do grupo-controle, porém a diferença é insignificante.

Não observamos alterações provocadas pelos antiinflamatórios de origem vegetal que indicassem um retardamento na regeneração óssea, e sim, um aceleração do processo de cura.

8 - SUMMARY

8 - SUMMARY

The present experiment was made in order to investigate the healing time of rats mandible, at the symphysis, undergoing surgery and under the effect of plant anti-inflammatory drugs (bromelain, aescin, papain).

The enzyme were given by daly intraperitoneal injections, using doses prescribed for human beings (1,143 μ /kg), during 15 days.

We noted that the animals treated with bromelain and aescin had a faster recovery time than those given papain and than those of the control group, with a slightly minor time favoring those of the bromelain group, that we could consider insignificant.

We also noted that the animals given bromelain showed a very better weight recovery, due, perhaps, to the diuretic activity of aescin.

The papain group showed a better recovery time than those of the control group, but the difference was too slight to take into consideration.

We found no kind of disturbances that may suggest that these plant enzymes could delay bone regeneration much by the contrary we observed that these drugs provide a shorter healing time.

9 - RESUMEN

9 - RESUMEN

En este trabajo investigamos la actividad reparadora del hueso mandibular de ratones, a nivel de la sínfisis, cuando sometidos a intervenciones quirúrgicas y bajo efecto de anti-inflamatorios de origen vegetal (bromelina, escina y papaína).

Los anti-inflamatorios estudiados fueron inyectados intraperitonealmente, en dosis semejantes a las indicadas para humanos ($1.143 \mu/\text{kg}$), diariamente, durante 15 días.

Fuè verificado que los animales tratados con bromelina y escina tuvieron una recuperación más rápida que los tratados con papaína y que los del grupo de control, con una muy pequeña ventaja de tiempo de recuperación a favor de la bromelina, y notamos también una recuperación bien más rápida en lo que refiere al peso total, favorable a la bromelina, causada, probablemente, por la acción diurética de la escina.

Los animales tratados con papaína tuvieron un tiempo de recuperación menor que los animales del grupo de control, pero la diferencia fuè insignificante.

No observamos alteraciones provocadas por los anti-inflamatorios de origen vegetal que indicaran un atraso en la regeneración ósea, mucho por lo contrario, constatamos una aceleración del proceso de cura.

10 - BIBLIOGRAFIA

10 - BIBLIOGRAFIA

- 1 - BODI, B. The Effects of Oral Bromelains on Tissue Permeability to Antibiotics and Pain Response to Bradykinin: Double-blind Studies on Human Subjects. Clinical Medicine, 73(8): 61-63, 1966.
- 2 - BURKE, D. E. ; LEWIS, S. D. ; SHAFER, J. A. A Two-Step Procedure for Purification of Papain from Extract of Papase Latex. Arch. Biochem. Biophys, 164(1): 30-36, 1974.
- 3 - CACI, F. ; GLUCK, G. M. Double-blind Study of Prednisolone and Papase as Inhibitors of Complications After Oral Surgery. J. A. D. A., 93(2): 325-327, 1976.
- 4 - CIRELLI, M. Cura dell'inflammatione e dell'edema con la bromelina. Min. Med., 55(98): 3953-3954, 1964.

- 5 - COOREMAN, W. ; LAUWERS, A. ; SCHARPÉ, S. Purification of Stem Bromelain by Affinity Chromatography. Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem., 355(10): 1185-1186, 1974.
- 6 - DEMARTIN, F. Sperimentazione clinica controllata della specialità medicinale Tetranase in ortopedia e traumatologia. Min. Med., 63: 3233-3244, 1972.
- 7 - DRENTH, F. ; JANSONIUS, J. N. ; KOEKOEK, R. ; SVEN, H. M. ; WOLTHERS, B. G. Structure of Papain. Nature, 218: 929-932, 1968.
- 8 - ENGFELDT, B. ; HULTH, A. ; WESTERBORN, O. Effect of Papain on Bone. Arch. Path., 68: 600-614, 1959.
- 9 - EVERSMAAN, R. O Tratamento Medicamentoso do Edema após Intervenções Cirúrgicas no Maxilar. Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift, 24: 238, 1960.
- 10 - FATINI, G. ; GALLENGA, G. C. ; VELTRONI, A. Un nuovo-enzima vegetale (bromelina) nella terapia chirurgica. Min. Chirurgica, 65: 814, 1967.
- 11 - GIACCA, S. Sperimentazione clinica dell'Ananase. Min. Med., 55(98): 3925-28, 1964.
- 12 - GIRERD, R. J. ; DIPASQUALE, G. ; STEINETZ, B. G. ; BEACH, V. L. ; PEARL, W. Propiedades Antiedematosas da Escina. Arch. Int. Pharmacodyn., 133: 1961
- 13 - GLICK, B. ; BRUBACKER, L. J. An Examination of the Rate Assay to Determine the Active-Site Normality of Papain. Analytical Biochemistry, 73: 419-432, 1976.

- 14 - GOLDENBERG, N. ; PRESTES, N. M. Tratamento Preventivo dos Edemas em Cirurgia Bucomaxilofacial com o Emprego da Escina (Estudo Experimental). In: V Congresso Brasileiro de C. e T. B. M. F., em 06/07/1979. São Paulo.
- 15 - HEFTI, F. ; KAPPELER, U. Clinical Investigation of Aescin Ampoules in Cases of Post-Operative and Post-Traumatic Edema. Praxis, 64: 72, 1975.
- 16 - HEINICKE, R. M. ; MORI, R. Effect of Diisopropylfluorophosphate on Sulphydryl Proteases. Science, 129: 1678, 1959.
- 17 - HEINICKE, R. M. ; Van der WAL, L. ; YOKOYAMA, M. Effect of Bromelain (Ananase) on Human Platelet Aggregation. Experientia, 28(7): 844-845, 1972.
- 18 - KOBERG, W. Profilaxia e Terapia dos Edemas Pós-Operatórios da Face e do Maxilar. Zentralblatt fur Chirurgie, 93(10): 381-387, 1968.
- 19 - KVINNSLAND, S. Craniofacial Skeletal Changes in Young Rats Induced by Prolonged Papain Administration. Growth, 38(3): 381-387, 1974.
- 20 - LANG, W. ; MENNICKE, W. H. Pharmacokinetic Study on Tritiated Escin in Mouse and Rat. Arzneim. Forsch., 22: 1928-1932, 1972.
- 21 - LOCKS, H. The Influence of Horse Chestnut Extracts on Venous Tone. Arzneim. Forsch., 24(9): 1347-1350, 1972.

- 22 - LUCAS, J. Experiência com a Escina em Terapia Interna. Med. Welt., 16: 913-916, 1963.
- 23 - MADDER, H. Estudo Comparativo entre Bromelina e Oxifenbutazona em casos de Episiotomia. Praxis, 62: 1064-1068, 1973.
- 24 - MAGLIULO, E. ; CARCÒ, F. P. ; GORINI, S. ; BARIGAZZI, G. M. In vivo and in vitro researches on the anti-phlogistic action of the escine. Arch. Sci. Med. , 125(6): 207-218, 1968.
- 25 - MAGNES, G. D. Proteolytic enzymes in oral surgery. J. A. D. A., 72: 1420-1425, 1966.
- 26 - MAMMARELLA, E. Osservazioni cliniche sulla possibilità di impiego in oculistica della bromelina. Min. Med., 55(98): 3935, 1964.
- 27 - MARTIN, G. J. ; BRENDDEL, R. ; BEILER, J. M. Absorption of Enzymes from the Intestinal Tract. Am. Jour. Pharm., 129: 194-197, 1957.
- 28 - MARTIN, G. J. ; EHRENREICH, M. A. ; ASBELL, N. Bromelain. Pineapple Protease with Anti-Edema - Activity. Exp. Med. Surg., 20: 227-247, 1962.
- 29 - MERKOW, L. ; LALICH, J. J. Skeletal Changes in Suckling Rats, Induced by Prolonged Papain Administration. J. Bone and Joint Surg., 43: 670-686, 1961.

- 30 - MCCLUSKEY, R. T. ; THOMAS, L. The Removal of Cartilage Matrix, in vivo, by Papain. Identification of Crystalline Papain Protease as the Cause of the Phenomenon. J. Exper. Med., 108: 371-383, 1958.
- 31 - MILLER, O. Analgésicos e Anti-inflamatórios não Esteroides. Revisão e Atualização. Odontólogo Moderno. V(5): 5-13, 1978.
- 32 - MILNE, J. ; BRAND, S. Occupational Asthma After Inhalation of Dust of the Proteolytic Enzyme. Papain. Br. J. Ind. Med., 34(4): 302-307, 1975.
- 33 - MINESHITA, S. ; SHIGEI, T. Prevention of adrenaline-induced pulmonary edema by stem bromelain in rabbits and analysis of the hemodynamic changes. Jpn. J. Pharmacol., 20: 373-381, 1970.
- 34 - MURACHI, T. ; YASUI, M. ; YASUDA, Y. Purification and Physical Characterization of Stem Bromelain. Biochemistry, 3(1): 48-55, 1964.
- 35 - MUSCHER, C. H. As possibilidades de associação das diferentes formas medicamentosas da escina. Praxis, 22(15): 970-972, 1971.
- 36 - NEUBAUER, R. A. A Plant Protease for Potentiation and Possible Replacement of Antibiotics. Exp. Med. Surg. 19: 143-160, 1961.
- 37 - PEREGALLI, P. F. Impiego orale della bromelina (Ananase) nel trattamento degli edemi ed ematomi nella pratica ortopedico - traumatologica. Min. Med., 55(98): 3932-3935, 1964.

- 38 - PRESTES, N. M. Vantagens do uso da escina no tratamento e profiloxina dos edemas em cirurgia oral menor. In: XIV Congresso Brasileiro de Odontologia, 1979.
- 39 - REIGH, D. L. Bromelain. Experiments illustrating proteolytic enzyme action. J. Chem. Educ., 53(6): 386, 1976.
- 40 - RENZINI, G. ; VARENGO, M. Assorbimento della tetraciclina in associazione con bromelina per via orale. Min. Med., 63: 3213-3218, 1972.
- 41 - RUSSOLO, M. Sull'impiego dell'associazione bromelina-tetraciclina in otorrinolaringoiatria. Min. Med., 63: 3226-3232, 1972.
- 42 - SABBAGH, A. Efeitos colaterais das drogas anti-inflamatórias sobre os valores hematológicos e os fatores da auto-hemostasia. Ars. Curandi em Odontologia, 5(7): 4-14, 1978.
- 43 - SAKANE, M. ; KANAZAWA, H. ; OHARA, A. Studies on the Active Site of Papain. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 24(1): 22-25, 1976.
- 44 - SEIFERT, A. P. ; GANSER, R. ; BRENDL, W. Absorption of a proteolytic enzyme originating from plants out of the gastro-intestinal tract into blood and lymph or rats. Zeitsch. Gastroenterol., 1: 1-8, 1979.
- 45 - SELTZER, A. P. Riduzione dell'edema post-operatorio e dell'equimosi per mezzo di un enzima orale (bromelina). Min. Med., 55(98): 3958-3960, 1964.

- 46 - SHILLI, W. ; LONZ, P. Medidas para evitar la tumefacción post-operatoria después de intervenciones quirúrgicas odontológicas. Zahnärztliche Welt., 65: 758, 1964.
- 47 - SIERING, H. The Permeability of Cell Membranes for Ions under the Influence of Aescin. Arzneim. Forsch., 12: 376-378, 1962.
- 48 - SIRTORI, C. M. Sperimentazione clinica della specialità = Ananase =. Min. Med., 55(98): 3298-3232, 1964.
- 49 - SMYTH, R. D. ; BRENNAN, R. ; MARTIN, G. J. Studies Establishing the Absorption of the Bromelains (Proteolytic Enzymes) from the Gastro-intestinal Tract. Exp. Med. Surg., 22: 46-59, 1964.
- 50 - SNIDER, G. L. ; HAYES, J. A. ; FRANZBLAU, C. ; KAGAN, H. M. ; STONE, P. S. ; KORTHY, A. L. Relationship Between Elastolytic Activity and Experimental Emphysema. Induced Properties of Papain Preparations. An. Rev. Respir. Dis., 11(3): 254-262, 1974.
- 51 - STRUWE, F. E. ; SCHILLI, W. Tratamento Pré- e Pós-Operatório nas intervenções de lábios leporinos nos lactentes com especial relação à inibição do edema. Munch. Med. Wschr., 105: 2063, 1974.
- 52 - THOREK, P. ; PANDIT, J. K. Proteolytic Enzymes in Wound Repair. Immediate Post-operative Effects. Appl. Ther., 6: 323-325, 1974.

- 53 - TOMAINO, A. ; PICCHI, A. ; BARISONI, D. L'azione della bromelina negli interventi di rinoplastica. Min. Chirurgica, 85: 1072-1074, 1967.
- 54 - USCAVAGE, J. P. ; GILMAN, M. ; MARTIN, G. J. Antibody Production Following the Oral Administration of Proteolytic Enzymes. Exp. Med. Surg., 24: 244-257, 1966.
- 55 - VESPA, N. Superimentazione clinica controllata del Te tranase in campo odontoiatrico. Min. Med., 62: 3219-3225, 1966.
- 56 - VOGEL, G. ; MAREK, M. L. ; OETNER, R. Studies on the Mechanisms of Therapeutic and Toxic Actions of the Horse Chestnut Saponin Escin. Arzneim. Forsch., 20(5): 699-703, 1970.
- 57 - WAGNER, J. On the Components of the Seeds of Horse Chestnut. 4th Communication. Arzneim. Foresch., 17: 546-551, 1967.
- 58 - WHARTON, C. W. The Structure and Mechanism of Stem Bromelain. Biochem. J., 143(3): 575-586, 1974.
- 59 - WILHELM, K. ; FELDMIEIER, C. Thermometric investigations about the efficacy of the betaescin to reduce post-operative edema. Med. Klin., 72: 128-134, 1977.
- 60 - YAMADA, F. ; TAKAHASHI, N. ; MURACHI, T. Purification and Characterization of a Proteinase from Pineapple Fruit, Fruit Bromelain. FA 2ⁱ. J. Biochem. (Tokyo), 79(6): 1223-1234, 1976.