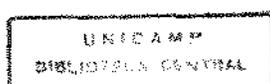


SOLANGE MARIA DIETERICH RABELO JUNQUEIRA

INFLUÊNCIA DA *betametasona*, EMPREGADA
NA FORMA DE PREPARAÇÕES FARMACÊUTICAS
DISTINTAS, SOBRE ALGUNS VALORES DE
AUTO - HEMOSTASIA, EM RATOS.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de DOUTOR
em Ciências, Área de Farmacologia.

PIRACICABA - SP
= 1992 =



SOLANGE MARIA DIETERICH RABELO JUNQUEIRA

INFLUÊNCIA DA *betametasona*, EMPREGADA
NA FORMA DE PREPARAÇÕES FARMACÊUTICAS
DISTINTAS, SOBRE ALGUNS VALORES DE
AUTO - HEMOSTASIA, EM RATOS.

Orientador: Prof. Dr. EDUARDO DIAS DE ANDRADE.

Este exemplar foi
divulgado e arquivado
em nome do autor?

CCPG / 036 / 83

Piracicaba, 06/10/92
Mudg.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de DOUTOR
em Ciências, Área de Farmacologia.

PIRACICABA - SP
= 1992 =

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A MINHA MÃE
ILKA LÍDIA

AOS MEUS FILHOS
CÉSAR ALEXANDRE
MARTA RAQUEL
ROSANA CAROLINE

AO MEU MARIDO
ANTÔNIO CESAR

OFEREÇO ESTE TRABALHO

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao PROF. DR. AMADO LEONISIO DE AZEVEDO

Por ter sido sempre, antes de mestre um grande amigo.

Ao PROF. DR. EDUARDO DIAS DE ANDRADE

Pela orientação segura, competente e amiga, manifestada em todos os passos desta caminhada.

AGRADECIMENTOS

A UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP, na pessoa de seu Magnífico Reitor Prof. Dr. CARLOS ALBERTO VOGT, pela manutenção do alto nível de ensino e da pesquisa nesta Universidade;

A FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA, na pessoa de seu Diretor Prof. Dr. RENATO ROBERTO BIRAL, e seu Diretor, Prof. Dr. OSVALDO DI HIPÓLITO JUNIOR, pelo apoio constante aos Cursos de Pós-Graduação;

A UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO, na pessoa de seu Magnífico Reitor Prof. ELYDO ALCIDES GUARESCHI, pelo incentivo aos professores que buscam melhor qualificação;

Ao INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB, da UPF, na pessoa de seu Diretor Prof. GILBOÉ LANGARÓ MENDES, pelo incentivo à qualificação dos professores daquele Instituto;

A FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO, na pessoa de seu Diretor Prof. TADEU DA ROCHA PEREIRA, pelo seu empenho e apoio aos professores, na conquista de suas realizações profissionais;

A COORDENAÇÃO DOS CURSOS DE PÓS-GRADUAÇÃO DA FOP-UNICAMP, na pessoa do Prof. Dr. THALES ROCHA DE MATTOS FILHO, pela solidariedade demonstrada a todo momento;

A COORDENAÇÃO O CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO - ÁREA DE FARMACOLOGIA DA FOP-UNICAMP, na pessoa da Prof^a Dra. MARIA DE LOURDES G. DA GAMA pela dedicação e apoio prestados aos alunos do Curso de Pós-Graduação;

Aos colegas professores da UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO, pelo carinho e compreensão;

Aos colegas do Curso de PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS - ÁREA DE FARMACOLOGIA DA FOP-UNICAMP, pelo companheirismo e incentivo;

Ao colega JOSÉ ROBERTO LEITE DE ALMEIDA, pelo apoio competente na fase experimental deste trabalho, e pela amizade sincera e gratificante, meu eterno carinho;

Ao colega FRANCISCO CARLOS GROppo, pela colaboração espontânea em várias etapas deste trabalho, bem como pela excelente digitação do original desta Tese;

À colega FERNANDA DOMINGUES FRANCO, pelo constante carinho e colaboração, muito preciosos no transcorrer deste trabalho;

A Sra. SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLIANI, Bibliotecária Chefe da FOP-UNICAMP, pela revisão das referências bibliográficas;

As secretárias VILMA BIZUTI DOS SANTOS e MARIA ELISA DOS SANTOS, pelos trabalhos de datilografia e pela atenção e carinho dispensados;

A Sra. ANA MARIA COSSA DE ARRUDA OLIVEIRA, secretária da CPG, pelos serviços prestados;

Aos técnicos de Laboratório JOSÉ CARLOS GREGÓRIO e MARILDA VOLPATO CORTAZZO (UNIMEP), pela competente colaboração na parte experimental deste trabalho;

A CAPES - COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR, pelo constante incentivo aos professores universitários;

A todos aqueles que, de algum modo, colaboraram na realização deste trabalho.

CONTEÚDO

CONTEÚDO

	pág.
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO	02
CAPÍTULO II - REVISÃO DA LITERATURA	06
1. HEMOSTASIA	06
2. CORTICOSTERÓIDES E HEMOSTASIA	12
CAPÍTULO III - PROPOSIÇÃO	17
CAPÍTULO IV - MATERIAL E MÉTODOS	19
CAPÍTULO V - RESULTADOS	24
1. TEMPO DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA	24
2. CONTAGEM DE PLAQUETAS	28
CAPÍTULO VI - DISCUSSÃO	33
CAPÍTULO VII - CONCLUSÃO	42
RESUMO	44
SUMMARY	46
CAPÍTULO VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
APÊNDICE	57

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

I - INTRODUÇÃO

Nestas últimas 4 décadas, desde que HENCH et alii (1949) descobriram as potentes propriedades antiinflamatórias da cortisona, este composto e uma série de outros novos corticosteróides têm sido empregados em praticamente todas as especialidades da Medicina. A literatura é repleta de trabalhos demonstrando o sucesso do uso clínico dos corticosteróides, particularmente nas áreas da reumatologia, dermatologia, alergia, oftalmologia e medicina interna.

Em Odontologia, inúmeros ensaios clínicos têm comprovado a eficácia antiinflamatória dos corticosteróides em intervenções cirúrgicas excessivamente traumáticas, como nos casos das exodontias de terceiros molares mandibulares inclusos (HOOLEY & FRANCIS, 1969; MESSER & KELLER, 1975; CACI & GLUCK, 1976; GREENFIELD & CARUSO, 1976; HUFFMAN, 1977; VAN DER ZWAN et alii, 1982; SISK & BONNINGTON, 1985; ALMEIDA, 1990). Apesar disso, a maioria dos cirurgiões dentistas ainda prefere o emprego dos antiinflamatórios não-esteróides ou não-hormonais.

Acredita-se que a principal explicação para tal fato, esteja relacionada com inúmeros efeitos colaterais indesejáveis que acompanham a corticosteroideterapia. Realmente, vários trabalhos de revisão têm relacionado os efeitos indesejáveis dos corticosteróides, que muitas vezes limitam ou contra-indicam o seu uso clínico (DUJOVNE & AZARNOFF, 1973; AXELROD, 1976; BELLANTI, 1978; BAHN, 1982; OLIVEIRA, 1983; CLAMAN, 1983). Entretanto, a grande maioria destes autores afirma existir uma correlação positiva entre a incidência e gravidade dos efeitos colaterais dos corticosteróides com o tipo de droga empregada, a dose, a posologia e principalmente o tempo de duração do tratamento.

Como consequência, o uso clínico racional dos corticosteróides de ação prolongada, em dose única (MESSER & KELLER, 1975; HUFFMAN, 1977; MARSHALL & WALTON, 1984; ALMEIDA, 1990), tem contribuído inequivocamente para uma maior segurança no emprego deste grupo de antiinflamatórios, em Odontologia (BAHN, 1982; OLIVEIRA, 1983; CLAMAN, 1983).

Apesar da confiabilidade atualmente adquirida na prescrição de corticosteróides de ação prolongada (exemplos: dexametasona e betametasona), em dose única, na profilaxia da dor e do edema pós-operatórios (ALMEIDA, 1990), alguns trabalhos têm procurado avaliar os efeitos destes medicamentos em fenômenos biológicos de grande importância clínica em Odontologia.

ANDRADE (1980), demonstrou que a dexametasona, na dose diária de 0,1mg/Kg, por 28 dias, inibe consideravelmente a síntese de colágeno e de glicosaminoglicanas, em tecido de granulação induzido experimentalmente em ratos.

O mesmo autor, entretanto, em 1985, trabalhando com duas preparações farmacêuticas distintas de betametasona, na dose única de 0,1 mg/Kg, argumentou que a interferência negativa deste corticóide na reparação de feridas, em peles de ratos, era dependente da dose e do tempo de ação farmacológica do mesmo. Concluiu que a preparação de depósito de betametasona (meia-vida plasmática de 3 a 4 dias) produziu um efeito inibitório significativamente maior, quando comparado àquele apresentado pela preparação farmacêutica de menor duração de ação (meia-vida plasmática de 5 horas).

Seguindo esta linha de pensamento, VOLPATO (1991), estudando o reparo alveolar dental em ratos, demonstrou que a betametasona, quando empregada na dose única de 0,1mg/Kg, sob a forma farmacêutica de fosfato dissódico (rápida absorção e meia-vida plasmática de 5 horas), não interferiu na cronologia deste processo de reparo, ao final de 28 dias de estudo.

Ainda segundo esta autora, o mesmo corticosteróide, quando utilizado sob a forma farmacêutica de depósito (de lenta absorção e meia-vida plasmática de 3 a 4 dias), na dose única de 0,1 mg/kg, interferiu negativamente na evolução do processo de reparo alveolar pós-extração.

Já SOUZA ("in press"), demonstrou que a glicemia em jejum de ratos normais e diabéticos-aloxânicos, não é significativamente alterada quando estes animais são tratados com o fosfato dissódico de betametasona, na dose única de 0,1mg/Kg.

Além da síntese e maturação do colágeno, do processo de reparo alveolar e dos valores de glicemia, outro fenômeno biológico de grande importância na Odontologia, constitui-se na hemostasia.

Como poderá ser visto mais adiante, vários autores já estudaram a influência dos corticosteróides sobre os fenômenos da hemostasia. O assunto, entretanto, não se encontra totalmente esclarecido, pois alguns experimentos demonstraram uma tendência à hipercoagulabilidade, induzida pelos corticosteróides (BLIX & JACOBSEN, 1966), enquanto outros sugeriram que os glucocorticóides, quando empregados em altas doses, podem induzir a inibição do sistema de cascata da coagulação sanguínea (AASEN et alii, 1985).

Como ainda existem algumas controvérsias com relação às ações farmacológicas dos corticosteróides sobre a hemostasia, objetivou-se neste trabalho avaliar a influência da betametasona, quando empregada em dose única, sob forma de duas preparações farmacêuticas distintas, no tempo de coagulação e na contagem de plaquetas, em ratos. Esperava-se com isto trazer alguma contribuição ao assunto, especialmente no que diz respeito ao uso clínico deste fármaco, como medicação pré-operatória em procedimentos odontológicos que envolvem sangramento.

CAPÍTULO II - REVISÃO DA LITERATURA

II - REVISÃO DA LITERATURA

1 - HEMOSTASIA

ELEDJAM et alii (1985), definem a hemostasia como sendo um mecanismo complexo, que visa preservar a integridade vascular e a circulação do sangue, e lembram que o mecanismo da coagulação plasmática foi objeto de inúmeros estudos que levaram a duas teorias: a teoria da "cascata enzimática", na qual cada fator inativo, após sua ativação, será capaz de ativar, por sua vez, outro fator, e a teoria dos "complexos", implicando a ativação dos fatores da coagulação, após sua fixação a superfícies de micelas fosfolipídicas, exercendo o papel de catalisadores; os fosfolipídeos seriam de origem tissular (via exógena) ou de origem plaquetária (via endógena). Esta última teoria parece muito próxima da realidade, tendo no mínimo o mérito de mostrar o caráter localizado da reação, uma vez que os fatores ativados fixos a superfície das plaquetas ficam ao abrigo dos inibidores fisiológicos da coagulação.

Segundo PELISSIER et alii (1989a), o processo hemostático se inicia sempre que aparece uma solução de continuidade no endotélio vascular, compreendendo três etapas essenciais: a hemostasia primária (trombo branco que obtura a lesão), a coagulação plasmática (que reforça o trombo inicial) e a fibrinólise (que reabsorve o coágulo e promove o retorno da circulação normal).

De acordo com estes autores, a hemostasia primária, bem como os fenômenos de trombose, estão intimamente relacionados à agregação plaquetária e esta, por sua vez, com a síntese local de prostaglandinas. Estes autacóides exercem papel importante na adesão e agregação plaquetária, especialmente a prostaciclina (PGI_2) e a tromboxana A_2 (TXA_2); o primeiro, potente agente antiagregante plaquetário e vasodilatador, e o segundo, potente agente agregante plaquetário e vasoconstritor.

Em estado normal, existe um equilíbrio entre PGI_2 e TXA_2 no seio do sistema cardiovascular, as plaquetas produzindo TXA_2 e as células endoteliais produzindo PGI_2 . Entretanto, existe uma certa predominância de ação da PGI_2 sobre o TXA_2 , o que explica a ausência de coagulação intravascular. Nos estados patológicos ocorre um desequilíbrio entre tais mediadores, dando origem aos distúrbios da coagulação.

PELLISSIER et alii (1989a), explicam que o contato das plaquetas com estruturas subendoteliais (colágeno) provoca a agregação plaquetária. A lesão do endotélio vascular provoca uma diminuição da síntese de PGI_2 por desvio do metabolismo dos endoperóxidos para a síntese de TXA_2 , que favorece o aparecimento de trombose à nível da lesão. Citam ainda, as diferentes fases da agregação plaquetária: 1) Lesão com diminuição da formação de prostaciclina, provocando adesão das plaquetas às estruturas da íntima e entre elas; 2) Modificações morfológicas das plaquetas, com liberação do conteúdo plaquetário na atmosfera periplaquetária: formação de TXA_2 , potente indutor da reação; liberação de ADP, que ativa as plaquetas e mantém a liberação; contração da trombostenina, que permite uma liberação total do conteúdo plaquetário; liberação do fator F_3 plaquetário e da β -tromboglobulina. Enfim, estes autores, considerando a complexidade do fenômeno hemostático e a influência que muitas drogas exercem sobre o mesmo, salientam a importância do seu conhecimento, para facilitar a compreensão das manifestações patológicas relacionadas, bem como da natureza, importância e significação dos exames de laboratório que exploram este assunto.

A avaliação pré-operatória dos valores de hemostasia, de acordo com FORESTIER & SAMANA (1975), na maioria dos casos, pode ficar restrita a 4 exames clássicos: tempo de sangramento, contagem de plaquetas, tempo de tromboplastina parcial (TTPA) e tempo de protrombina (TP).

Já REDDING & OLIVE (1985), consideram o tempo de sangramento um teste mais sensível, estando mais relacionado com a história positiva de sangramento dos pacientes examinados, enquanto que os resultados dos testes de TP e TTPA, podem não estar correlacionados com a história positiva, pois os mesmos são de pouca sensibilidade, somente mostrando-se elevados quando os níveis de fatores da coagulação são muito baixos. Os autores sugerem que é conveniente obter-se uma história médica para a identificação da maior parte das hemorragias potenciais, e que estes três testes utilizados (TS, TP e TTPA), são de pequeno valor para esta população.

Por outro lado, o sistema simplificado da coagulação sangüínea proposto por MORAVITZ, citado por ELEDJAM et alii (1985), que consta de três etapas: formação da tromboplastina, formação da trombina e formação da fibrina, permite que, para cada etapa, sejam realizados testes clínicos simples. Na etapa da formação da tromboplastina, que utiliza duas vias, a via endógena é explorada em clínica para a determinação do tempo de coagulação, tempo de HOWELL e tempo de cefalina ativada (TTPA), explorando a via final comum. Já a via exógena é utilizada para se determinar o tempo de protrombina (TP), o qual explora também a via final comum. A formação de fibrina é explorada em clínica para se determinar o tempo de trombina; o coágulo assim formado estrutura-se e posteriormente sofre retração, que está diretamente ligada à função plaquetária, ao hematócrito e à concentração de fibrinogênio.

A solicitação de exames biológicos pré-operatórios da hemostasia, segundo PELISSIER et alii, (1989b), somente deverá ser feita após a realização de uma enquete médica e de exames clínicos iniciais, com o que se procura definir qual a bateria de exames mais específica a cada caso em particular. Os autores sugerem duas estratégias:

- 1) se o interrogatório e o exame clínico são normais, e a revisão será somente para rotina, solicita-se uma bateria de exames de primeiro nível: tempo de sangramento (TS - DUKE), contagem de plaquetas, TP e TTPA;

2) se as anomalias são constatadas na enquete médica pré-operatória, a bateria de exames de primeiro nível será um pouco mais apurada: tempo de sangramento (TS - Ivy), contagem de plaquetas, resistência capilar, TP, TTPA e lise do coágulo sobre o sangue total (facultativo). Esta segunda bateria de exames necessitaria ser feita em laboratório especializado.

Os principais transtornos hemorrágicos se associam com a disfunção de três sistemas fisiológicos, isolados ou conjuntamente: 1) anomalias de plaquetas; 2) anomalias de vasos sanguíneos e 3) anomalias de fatores plasmáticos de coagulação (NACHMAN, 1977).

Segundo este autor, as alterações clínicas associadas com defeitos qualitativos ou quantitativos de plaquetas, eventualmente com anomalia da parede dos vasos sanguíneos, são consideradas como enfermidades de hemostasia primária ou "síndromes purpúricas". Existem várias características clínicas e laboratoriais que ajudam a distinguir este conjunto de enfermidades das associadas com transtornos dos fatores da coagulação.

Dos vários agentes etiológicos que induzem alterações na hemostasia primária e na própria coagulação sanguínea, destacam-se as drogas, entre elas, a "aspirina" (ácido acetilsalicílico).

O aumento do tempo de sangramento em humanos está diretamente relacionado à ingestão de ácido acetilsalicílico, sendo que excelentes trabalhos documentam este fenômeno na literatura médica (WEISS et alii, 1968; O'BRIEN, 1968, HEPSO et alii, 1976). Cerca de 1 a 2 horas após a ingestão de ácido acetilsalicílico o tempo de sangramento pode-se estender para 10 minutos ou mais (STUART et alii, 1972).

O efeito da aspirina de prolongamento do tempo de sangramento, enquanto a globulina anti-hemofílica (AHG, Fator VIII) permanece normal, é denominado "trombopatia" por WEISS et alii (1968), sendo aparentemente dose-dependente, através de uma relação linear (EVANS et alii, 1968).

MIELKE (1983), demonstrou que uma única dose de ácido acetilsalicílico (650 mg), pode prolongar o tempo de sangramento por um período de 4 a 5 dias, por afetar a agregação plaquetária.

FOULKE (1976), relatou um caso de um paciente que sofreu uma severa hemorragia gengival por 4 a 5 dias após profilaxia dental. A hemorragia foi atribuída à ingestão de 2 comprimidos de aspirina (650mg), tomados para aliviar uma cefaléia na noite anterior à intervenção odontológica.

A explicação para tal fato é que a aspirina é um inibidor da enzima cicloxigenase, sendo a reação devida a um processo irreversível de acetilação. Nas plaquetas sangüneas a inibição desta enzima bloqueia a síntese de tromboxana A_2 , uma substância com ação vasoconstritora, que induz a agregação plaquetária, sendo potencialmente trombótica (SMITH & WILLIS, 1971; VANE & FERREIRA, 1979; MAILLARD, 1984).

NUOTTO et alii (1983), usando a aspirina em doses de 50, 100, 250 e 1000 mg diariamente, em humanos, demonstraram que todas estas doses suprimiram a formação de tromboxana A_2 pelo período de 14 dias.

Além da aspirina, diversas outras drogas antiinflamatórias têm sido descritas como inibitórias da agregação plaquetária (WEISS et alii, 1968; O'BRIEN, 1968; ZUCKER & PETERSON, 1970). De acordo com BRUNETAUD et alii (1972), este efeito pode ser induzido pela indometacina, fenilbutazona, aminopirina e dextropropoxifeno.

CEPELAK et alii (1972), afirmaram que a maioria dos agentes antiinflamatórios conhecidos, independentemente das suas diferentes estruturas químicas, inibem a função plaquetária, bem como são capazes de aumentar a lise da fibrina formada (fibrinólise). Verificaram que a intensidade destes dois efeitos não é diretamente proporcional à potência antiinflamatória. Como exemplo, demonstraram que a indometacina é relativamente o mais forte ativador da fibrinólise e, por outro lado, o mais fraco inibidor da agregação plaquetária induzida pelo ADP e colágeno. Já o ácido acetilsalicílico, potente inibidor da agregação plaquetária, não é ativador da fibrinólise.

Segundo CROSSLEY et alii (1983), os antiinflamatórios não esteróides (AINES) possuem efeitos similares à aspirina sobre a função plaquetária, mas em menor grau, sendo que as conseqüências clínicas são desprezíveis.

Entretanto, num estudo em 15 adultos saudáveis, WEINTRAUB et alii (1978), demonstraram que o piroxicam diminui a agregação plaquetária 24 horas após doses de 20 e 40mg. Os efeitos se estenderam por 2 semanas.

MICHALEVICZ & SELIGSOHN (1982), relataram um caso de sangramento espontâneo no cotovelo e hematoma no antebraço, num paciente recebendo o diclofenaco sódico, por via retal.

TOROSIAN et alii (1985), descreveram um aumento significativo do sangramento mediastínico, após cirurgia das artérias coronárias, em 2 pacientes que receberam ibuprofeno pré-operatoriamente.

2 - CORTICOSTERÓIDES E HEMOSTASIA

SMITH et alii (1950), estudando os efeitos dos glucocorticóides sobre a hemostasia, verificaram que em três indivíduos normais que receberam dose única de 20mg de ACTH, por via intramuscular, ocorreu um significativo aumento na circulação de heparina ou substância semelhante à heparina, prolongamento no tempo de coagulação, diminuição da circulação de eosinófilos e normalidade na contagem de plaquetas.

Por outro lado, COSGRIFF (1951), estudando a frequência de acidentes tromboembólicos em 700 pacientes sob tratamento com ACTH e cortisona, concluiu que a ocorrência de 40 episódios trombóticos em 28 destes pacientes foi elevada, reforçando os achados de outros estudos que consideravam os glucocorticóides como indutores de hipercoagulabilidade. No entanto, o autor reconhece que muitos destes pacientes apresentavam doenças que predispunham a estes acidentes, sugerindo a possibilidade de que as complicações tromboembólicas estivessem mais estritamente relacionadas às doenças preexistentes que à terapia hormonal. De fato, neste estudo, 4 pacientes com história de trombose venosa ou embolia pulmonar, mostraram recorrência destes fenômenos.

Analisando cuidadosamente os trabalhos de diversos autores, FAHEY (1951), resolveu fazer um experimento empregando um controle mais sensível da coagulação do sangue (teste modificado de LEE-WHITE), utilizando ACTH na dose única de 20 mg, por via endovenosa. Em contraste com outros estudos anteriores, este ensaio não mostrou alterações significantes no tempo de coagulação de pacientes recebendo ACTH.

De acordo com MCGRAW et alii (1952), o tratamento de 20 pacientes com tromboflebite ou flebotrombose que receberam ACTH ou cortisona, resultou numa melhora subjetiva entre 2 e 24 horas do início da administração hormonal e alterações objetivas, isto é, diminuição significativa do edema e da febre, após 24 horas do início do tratamento.

Segundo os pesquisadores, uma elevação dos níveis de heparina e diminuição dos níveis de protrombina, além de um aumento do tempo de protrombina, foram encontrados em todos os testes. Nenhuma evidência de embolismo pulmonar foi encontrada nesta série. Apesar da melhora dramática dos sinais e sintomas e das mudanças favoráveis no tempo de protrombina e níveis de heparina, e em função de que nenhuma superioridade sobre os já conhecidos anticoagulantes foi observada, os autores não justificam a substituição daqueles pelo ACTH ou cortisona. Além disso, advertem sobre o perigo potencial do ACTH e da cortisona em induzir um estado de hipercoagulabilidade.

BLIX & JACOBSEN (1966), relataram o caso de um paciente portador de angiossarcoma de baço e síndrome de defibrinação que, após ser medicado com prednisona (dose inicial de 40mg/dia) por 3 semanas, apresentou um quadro de hipercoagulabilidade do sangue. Após a normalização do estado clínico, novo tratamento com prednisona foi feito por 10 dias, e novamente constatou-se o fenômeno da hipercoagulabilidade sangüínea.

Utilizando-se das técnicas de tempo de sangramento da veia jugular e tempo de sangramento microvascular, em coelhos, BLAJCHMAN et alii (1979), obtiveram resultados que confirmam a inibição da síntese de prostaciclina (PGI_2) pela hidrocortisona, na parede dos vasos sangüíneos. Os resultados obtidos mostraram uma diminuição do tempo de sangramento em todos os animais estudados, de intensidade dose-relativa. Os achados são compatíveis com a hipótese de que as paredes dos vasos, quando lesadas, liberam prostaglandinas relaxadoras da musculatura lisa, e que a inibição da síntese destas prostaglandinas pela hidrocortisona acelera a hemostasia por permitir que a vasoconstrição seja mantida, segundo estes autores.

Um estudo realizado por JORGENSEN et alii (1982), em 23 pacientes com doença hematológica e do colágeno, sob tratamento com prednisona (7 a 60mg/dia), evidenciou, através de testes sangüíneos realizados antes, após 2 dias e 6 semanas de tratamento, um aumento na atividade da cascata da coagulação, caracterizados pelos seguintes resultados:

1) Aumento dos níveis de protrombina e proconvertina e diminuição do TTPA; 2) Aumento dos níveis de antitrombina plasmática III; 3) Diminuição dos níveis de fibrinogênio. Diante disso, os autores sugerem que o aumento da atividade da cascata da coagulação após tratamento com glucocorticóides, parece ser contrabalançado pelo aumento nos níveis de antitrombina plasmática.

Segundo AXELROD (1983), os glucocorticóides parecem funcionar como reguladores do fluxo sanguíneo local, através da modulação das respostas vasculares a outras substâncias, sem terem necessariamente este efeito quando administrados isoladamente. O autor sugere que o possível efeito dos glucocorticóides sobre o tono vascular é mediado pela inibição da produção de prostaciclina pelo endotélio vascular e, possivelmente, por outras células. O autor conclui, finalmente, que a produção de prostaciclina parece diminuir na presença de grandes quantidades de glucocorticóides e aumentar na deficiência dos mesmos.

Por outro lado, PUUSTINEN et alii (1984), estudando sangue de indivíduos sadios ou com doença do tecido conjuntivo, sob tratamento com glucocorticóides ou não, chegaram a algumas conclusões específicas em relação à ação destes medicamentos sobre os níveis plasmáticos de tromboxana e prostaciclina:

1) A hidrocortisona, prednisona e dexametasona não mostraram efeito significativo sobre a formação de TXA_2 "in vitro", durante a coagulação do sangue;

2) A prednisona não altera os níveis de TXB_2 e PGI_2 no plasma e durante a coagulação;

3) A formação de TXB_2 durante a coagulação do sangue foi normal após tratamento com prednisona e na presença de grandes quantidades de glucocorticóides;

4) Desde que os leucócitos são conhecidos por sintetizar peptídeos induzidos pelos glucocorticóides, capazes de inibirem a atividade da fosfolipase e desde que o TXB_2 formado durante a coagulação do sangue origina-se predominantemente das plaquetas, parece que estes peptídeos não são liberados dos leucócitos em quantidades suficientes para inibirem a atividade da fosfolipase nas plaquetas.

Os efeitos de altas doses de glucocorticóides sobre a cascata da coagulação, foram estudados por AASEN et alii, em 1985, através de experimentos "in vivo" e "in vitro". Os achados indicaram que altas doses de metilprednisolona interferiam com a porção molecular do fator - HAGEMAN, com a pré-caliceína e cininogênio, responsáveis pela ativação por contato. Assim, o conjunto de moléculas necessárias para regenerar várias proteases poderia estar inibido. Outra explicação possível para os autores é a interferência dos glucocorticóides na alteração da negatividade das superfícies, necessárias para a ativação por contato. Sugeriram então que os glucocorticóides, em altas doses, poderiam inibir o sistema de cascata da coagulação sanguínea.

CAPÍTULO III - PROPOSIÇÃO

III - PROPOSIÇÃO

Em virtude da atual tendência de se empregar os corticosteróides de ação prolongada, na profilaxia da dor e do edema inflamatório agudo, especialmente em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, propõe-se neste trabalho:

-Estudar, comparativamente, os efeitos da betametasona sobre o tempo de coagulação sanguínea e número de plaquetas, em ratos, quando empregada nas seguintes formas farmacêuticas e doses:

1. fosfato dissódico de betametasona (meia-vida plasmática de 5 horas), na dose única de 0,1 mg/Kg.

2. fosfato dissódico, associado ao acetato de betametasona (meia-vida plasmática de 3 a 4 dias), na dose única de 0,1 mg/Kg.

CAPÍTULO IV - MATERIAL E MÉTODOS

IV - MATERIAL E MÉTODOS

1. Animais utilizados

Foram utilizados para esta pesquisa, 30 ratos (Rattus norvegicus albino, linhagem WISTAR heterogenética), machos, adultos jovens, pesando $200 \pm 20g$, procedentes do Centro de Bioterismo da UNICAMP (animais mantidos sob barreira de qualidade sanitária - spf^{****}).

Durante o período de adaptação (uma semana) e a fase experimental, foram alimentados com ração balanceada padrão¹ e água "ad libitum".

2. Distribuição dos grupos de estudo.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 3 Grupos experimentais (com 10 ratos cada), que receberam tratamentos distintos, de acordo com o seguinte:

GRUPO I - Também denominado CONTROLE, desde que os animais deste grupo foram tratados com solução de cloreto de sódio a 0,9% (sol. salina), por via intramuscular, recebendo um volume equivalente ao empregado nos animais dos GRUPOS II e III, de acordo com o peso.

GRUPO II - Os animais deste grupo foram injetados, via intramuscular, com betametasona, na forma de fosfato dissódico² (éster altamente solúvel e de rápida absorção), na dose única de 0,1 mg/Kg de peso corporal.

¹ - Ração PRODUTAR[®] n.º 49 (Anderson Clayton S/A)

² - CELESTONE[®] injetável (Ind. Química e Farmacêutica Schering - Plough Ltda.)

GRUPO III - Pela mesma via de administração e também na dose única de 0,1mg/Kg, os animais deste grupo receberam a associação do fosfato dissódico com o acetato de betametasona³ (éster pouco solúvel e de absorção lenta).

3. Procedimentos experimentais

Nos tempos de 1, 24, 48 e 168 horas após a administração de solução salina ou das preparações de betametasona, os animais foram submetidos à anestesia geral com éter sulfúrico, seguido de um corte transversal na cauda. Simultaneamente, um cronômetro foi acionado e procedeu-se à colheita do sangue, inicialmente através de 2 tubos capilares (para a avaliação do tempo de coagulação), deixando-se em seguida fluir mais 1 ml em um frasco de vidro com tampa, contendo 1 gota de EDTA a 10% (destinado à contagem de plaquetas). Imediatamente após a colheita do material, em cada tempo de estudo, realizou-se um amarrilho duplo, com fio de algodão, logo acima do corte, para conter a hemorragia. Cumpre-se ressaltar que as 2 primeiras gotas de sangue foram desprezadas.

Após a colheita de material, no último tempo de estudo, os animais foram sacrificados pela inalação contínua de éter sulfúrico.

Destaca-se que, num projeto piloto, foram obtidos os valores do tempo de coagulação e contagem de plaquetas, em 10 animais que não receberam qualquer tratamento (controle), sendo que este lote não foi incluído no número total de animais selecionados para esta pesquisa.

³ - CELESTONE SOLUSPAN[®] (Ind. Química e Farmacêutica Schering - Plough Ltda.)

4. Métodos de Estudo

4.1. Tempo de Coagulação Sangüínea

O tempo de coagulação sangüínea foi avaliado através do método clássico do teste capilar para tempo de coagulação (SABRAZÉS, 1904), que utiliza tubos capilares de vidro⁴ para a colheita do sangue. A cada 30 segundos, uma parte do tubo era quebrada cuidadosamente e as extremidades afastadas, até que um delicado filete de fibrina pudesse ser visualizado, momento no qual o cronômetro era interrompido.

Para cada animal foram realizadas duas leituras (2 tubos), e o tempo de coagulação considerado como a média aritmética das duas aferições.

4.2 Contagem de plaquetas

Para a contagem de plaquetas foi empregado o método de BRECHER & CRONKITE (1950). O sangue acondicionado com EDTA a 10% foi diluído em solução aquosa de 1% de oxalato de amônio na proporção de 1:20 (0,1ml de sangue + 1,9ml de oxalato de amônio), e em seguida passou-se ao preenchimento da câmara de Neubauer, que foi colocada numa placa de Petri, por um período de 15 minutos (câmara úmida). Após este período, procedeu-se a contagem de plaquetas, com o auxílio de um microscópio óptico (ZEISS, W. Germany), no aumento de 400x.

⁴ - Tubos capilares para determinação de micro-hematócrito (75 mm X 1,0 mm X 1,5 mm), PERFECT IND. e COM. de lâminas de vidro Ltda.

Foram consideradas as plaquetas encontradas em 5 dos 25 quadros que compõem cada retículo central da referida câmara e o valor obtido foi multiplicado pelo fator 1000, correspondendo ao número de plaquetas por mm^3 . Para efeito de análise estatística, foram considerados os números relativos da contagem de plaquetas.

Como a contagem foi realizada em duplicata (preenchimento dos 2 compartimentos da câmara de Neubauer), o resultado final foi a média aritmética das duas leituras.

5. Análise Estatística

Os valores médios do tempo de coagulação sanguínea e da contagem de plaquetas, por grupo experimental e em cada tempo de estudo, foram tratados estatisticamente através de uma análise de variância e aplicação do teste de TUKEY, a um nível de significância de 5%.

CAPÍTULO V - RESULTADOS

V - RESULTADOS

1. TEMPO DE COAGULAÇÃO SANGÜÍNEA

Os valores médios correspondentes ao tempo de coagulação sangüínea (em segundos), por animal estudado, nos diferentes grupos experimentais e tempos de estudo, encontram-se no Apêndice deste trabalho. Estes dados foram então submetidos a análise de variância e ao teste de TUKEY.

Os valores médios dessas medidas, por grupo experimental, em cada tempo de estudo, estão expressos na Tabela I.

TABELA I. Valores médios do tempo de coagulação sangüínea (em segundos), por grupo experimental, nos diferentes tempos de estudo.

TEMPOS DE ESTUDO	GRUPOS EXPERIMENTAIS		
	(CONTROLE) I	(CELESTONE) II	(CELESTONE SOLUSPAN) III
1 hora	243	256,5	283,5
24 horas	231	225	217,5
48 horas	229,5	222	235,5
168 horas	229,5	238,5	283,5

Para uma melhor ilustração da grandeza relativa das médias, observar a Figura 1.

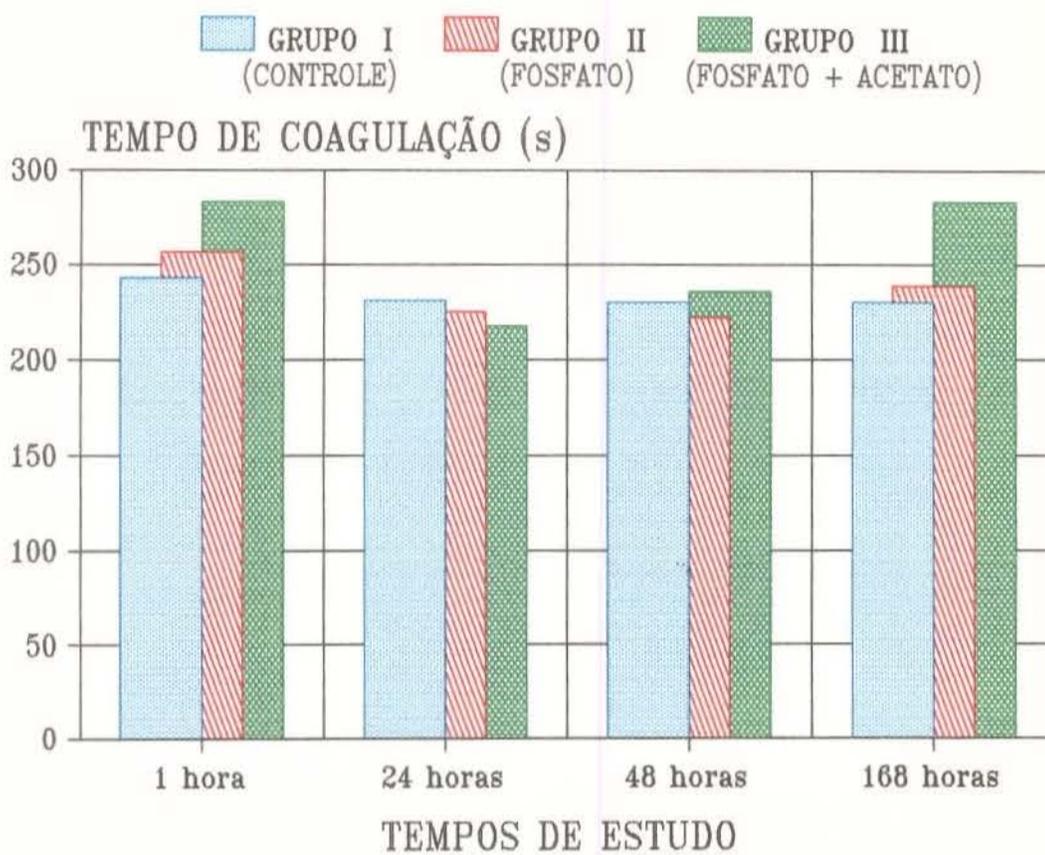


Figura 1 - Valores médios do tempo de coagulação sanguínea (em segundos), por grupo experimental, nos diferentes tempos de estudo.

Os valores em cada tempo de estudo, por grupo experimental (Tabelas 1.1; 1.2; 1.3; e 1.4 do Apêndice), foram submetidas a uma análise de variância com um critério de classificação, apresentados nas Tabelas II, III, IV e V, respectivamente.

TABELA II. Análise de variância, relativa aos dados da Tabela 1.1. do Apêndice.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPO	2	8505	4252,5	2,63
RESÍDUO	27	43515	1611,66	
TOTAL	29	52020	5864,16	

O valor de F, apresentado na Tabela II, não é significativo ao nível de 5%. Com base nesse resultado, pode-se afirmar que, em média, não há uma diferença estatisticamente significativa entre os tempos de coagulação sanguínea dos animais, dos diferentes grupos experimentais, no tempo de 1 hora.

TABELA III. Análise de variância, relativa aos dados da Tabela 1.2. do Apêndice.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPO	2	915	457,5	0,59
RESÍDUO	27	20917,5	774,7	
TOTAL	29	21832,5	1232,2	

O valor de F, na Tabela III, não é significativo ao nível de 5%. Com base nesse resultado, pode-se afirmar que, em média, não há uma diferença estatisticamente significativa entre os tempos de coagulação sanguínea dos animais, independente do tratamento recebido, no tempo de 24 horas.

TABELA IV. Análise de variância, relativa aos dados da Tabela 1.3. do Apêndice.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPO	2	915	457,5	0,56
RESÍDUO	27	22005	815	
TOTAL	29	22920	1272,5	

O valor de F, na Tabela IV, não é significativo ao nível de 5%. Com base nesse resultado, pode-se afirmar que, em média, não há uma diferença estatisticamente significativa entre os tempos de coagulação sanguínea dos animais, independente do grupo-experimental, no tempo de 48 horas.

TABELA V. Análise de variância relativa aos dados da Tabela 1.4. do Apêndice

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPO	2	16740	8370	29,6
RESÍDUO	27	7627,5	282,5	
TOTAL	29	24367,5	8652,5	

O valor de F, apresentado na Tabela V, é significativo ao nível de 5%. Para comparar as médias de grupos, duas a duas, foi aplicado o teste de Tukey. O valor da diferença mínima significativa (d.m.s.), ao nível de 5% de significância, é 21,08. Com base neste resultado, pode-se afirmar que, em média, o tempo de coagulação sanguínea dos animais do Grupo III (tratados com a associação de fosfato dissódico e acetato de betametasona), é maior do que aquele obtido para os animais dos demais grupos de estudo, no tempo de 168 horas.

2. CONTAGEM DE PLAQUETAS

Os valores correspondentes ao número relativo de plaquetas (por mm^3), por animal estudado, nos diferentes grupos experimentais e tempos de estudo, encontram-se no Apêndice. Estes dados foram então submetidos à análise de variância e ao teste de TUKEY.

Os valores médios dessas medidas, por grupo experimental, em cada tempo de estudo, estão expressos na Tabela VI.

TABELA VI. Valores médios do número relativo de plaquetas (por mm^3), por grupo experimental, nos diferentes tempos de estudo.

TEMPOS DE ESTUDO	GRUPOS EXPERIMENTAIS		
	(CONTROLE) I	(CELESTONE) II	(CELESTONE SOLUSPAN) III
1 hora	530.3	483.4	505.6
24 horas	566.1	513.1	505.9
48 horas	505.4	521.6	539.8
168 horas	528.9	546.2	521.5

Para uma melhor ilustração da grandeza relativa das médias, observar a Figura 2.

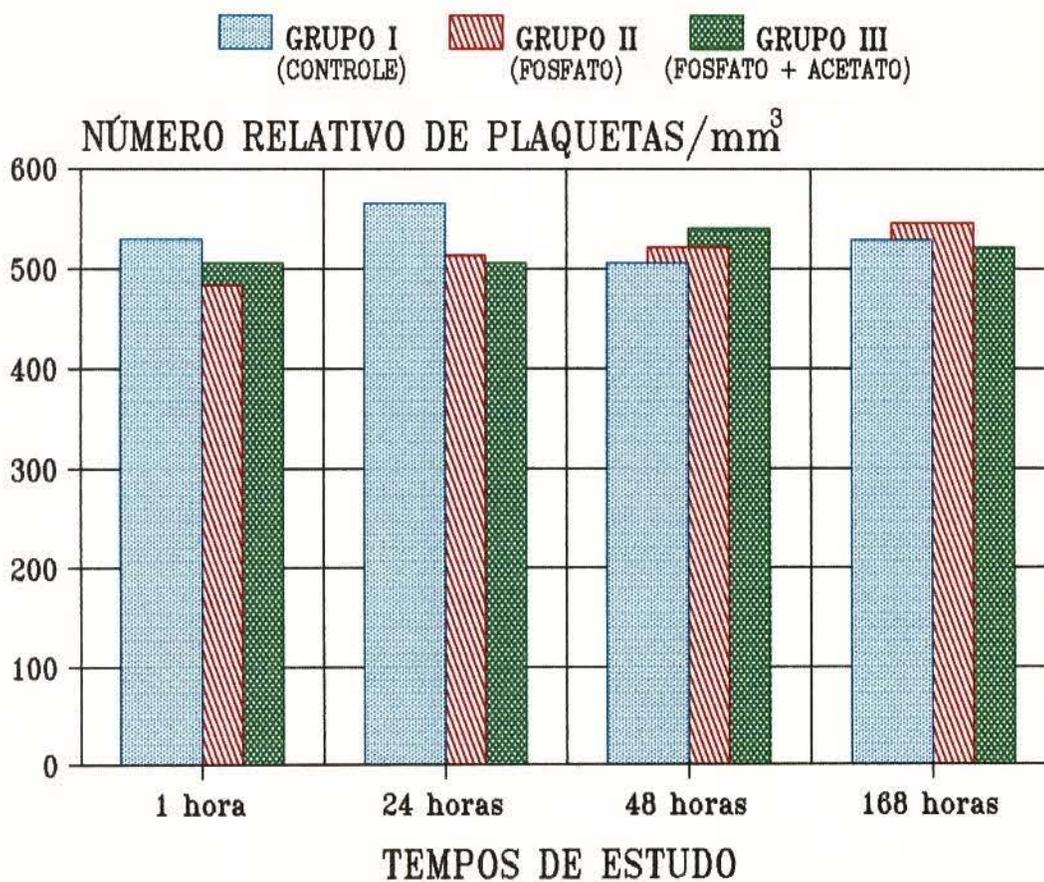


Figura 2 - Valores médios do número relativo de plaquetas (por mm^3), por grupo experimental, nos diferentes tempos de estudo.

Os valores obtidos em cada tempo de estudo, por grupo experimental (Tabelas 2.1.; 2.2.; 2.3. e 2.4. do Apêndice), foram submetidos a uma análise de variância com um critério de classificação, apresentados nas Tabelas VII, VIII, IX e X, respectivamente.

TABELA VII. Análise de variância, relativa aos dados da tabela 2.1. do Apêndice.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPO	2	11008,6	5504,3	0,98
RESÍDUO	27	150162,9	5561,5	
TOTAL	29	161171,5	11065,8	

O valor de F, apresentado na Tabela VII, não é significativo ao nível de 5%. Com base nesse resultado, pode-se afirmar que, em média, não há uma diferença estatisticamente significativa entre os números relativos de plaquetas dos animais, independente do grupo experimental, no tempo de 1 hora.

TABELA VIII. Análise de variância, relativa aos dados da tabela 2.2. do Apêndice.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPO	2	21336,3	10668,1	5,76
RESÍDUO	27	49930,4	1849,2	
TOTAL	29	71226,7	12517,3	

O valor de F, apresentado na Tabela VIII, é significativo ao nível de 5%. Para comparar as médias de grupos, duas a duas, foi aplicado o teste de Tukey. O valor da diferença mínima significativa (d.m.s.), ao nível de 5% de significância, é 53,9. Com base neste resultado, pode-se afirmar que, em média, o número de plaquetas computados para os animais do GRUPO III (tratados com a associação de fosfato dissódico e acetato de betametasona), é menor do que aquele obtido para os animais do GRUPO I (Controle), no tempo de 24 horas de estudo.

TABELA IX. Análise de variância relativa aos dados da Tabela 2.3. do Apêndice.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPO	2	5923,5	2961,7	0,99
RESÍDUO	27	80286,5	2973,5	
TOTAL	29	86210	5935,2	

O valor de F, apresentado na Tabela IX, não é significativo ao nível de 5%. Com base nesse resultado, pode-se afirmar que, em média, não há uma diferença estatisticamente significativa entre os números relativos de plaquetas dos animais, independente do grupo experimental, no tempo de 48 horas.

TABELA X. Análise de variância relativa aos dados da Tabela 1.4. do Apêndice.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPO	2	3213,8	1606,9	0,29
RESÍDUO	27	144773	5361,9	
TOTAL	29	147986,8	6968,8	

O valor de F, apresentado na Tabela X, não é significativo ao nível de 5%. Com base nesse resultado, pode-se afirmar que, em média, não há uma diferença estatisticamente significativa entre os números relativos de plaquetas dos animais, nos diferentes grupos experimentais, no tempo de 168 horas de estudo.

CAPÍTULO VI - DISCUSSÃO

VI - DISCUSSÃO

Muitos autores já procuraram avaliar diferentes espécies de animais de laboratório, com a finalidade de determinar quais delas poderiam servir de parâmetro para os estudos sobre hemostasia.

Mac MILLAN et alii (1970), realizaram um estudo comparativo da agregação plaquetária no homem e em animais de laboratório, concluindo que o gato é o melhor modelo para estudos de agregação secundária e que qualquer outro animal, com exceção do cobaio e do rato, podem ser apropriados para estudos de agregação-desagregação iniciais.

Por outro lado, GRÜNER & ENDRESSEN (1971), trabalhando especialmente com ratos, mostraram que um corte transversal da veia caudal deste animal, provê uma adequada fonte de sangue (4 gotas), que permite o emprego da técnica de contagem de plaquetas, de forma satisfatória, o que é muito conveniente em se tratando de animais de laboratório de pequeno porte.

Num trabalho mais atual, LEWIS et alii (1985) verificaram que a coagulação sanguínea de ratos albinos Wistar difere pouco da coagulação do sangue humano e que as plaquetas, pequenas e numerosas, se agregam bem com ADP, mas pouco com colágeno, trombina, epinefrina, ácido araquidônico e plasma de boi ou porco.

Apesar das técnicas empregadas no presente trabalho para a avaliação do tempo de coagulação sanguínea e contagem de plaquetas serem de simples execução, acredita-se que as mesmas traduziram com fidelidade os parâmetros estudados, permitindo seu emprego em futuros experimentos laboratoriais.

Parece estar bem estabelecida a eficácia clínica dos diferentes medicamentos antiinflamatórios, na dependência da droga e da dose empregada, da posologia e principalmente da duração do tratamento.

Por outro lado, é universalmente aceito que a indicação de um medicamento no tratamento de distintas patologias é baseada na relação risco/benefício ao paciente, desde que a quase totalidade dos fármacos apresentam efeitos colaterais indesejáveis. Os antiinflamatórios em questão não se constituem em exceções e para confirmar tal assertiva, basta consultar, por exemplo, algumas monografias da Farmacopéia Britânica (MARTINDALE - The Extra Pharmacopeia), que enumera os principais efeitos colaterais que acompanham a terapia com antiinflamatórios esteróides e não-esteróides, destacando-se a interferência negativa no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, quando se empregam os corticosteróides, e os distúrbios gastrintestinais, quando são utilizados os não-hormonais.

No que diz respeito aos efeitos destes medicamentos sobre os fenômenos da hemostasia, que interessam sobremaneira a esta pesquisa, ressaltam-se aqueles induzidos pela "aspirina" (ácido acetilsalicílico), já revisados em capítulo anterior. Paralelamente, apesar de uma casuística bem menor, também são relatados casos clínicos onde comprovadamente ocorreram alterações dos valores de auto-hemostasia, conseqüentes ao uso de antiinflamatórios não esteróides, como o ibuprofeno (WARD, 1969; TOROSIAN et alii, 1985), o piroxicam (WEINTRAUB et alii, 1978) ou até mesmo o diclofenaco sódico (MICHALEVICZ & SELIGSOHN, 1982).

Já com relação aos corticosteróides, seus efeitos sobre a hemostasia são bastante controversos, desde que alguns autores demonstraram uma tendência a hipocoagulabilidade sangüínea induzido pelo ACTH ou similares, enquanto outros achados indicam uma diminuição do tempo de coagulação em pacientes sob corticosteróideterapia por tempo prolongado, ou seja, uma tendência à hipercoagulabilidade do sangue.

Analisando-se os resultados obtidos nesta pesquisa, tomando-se por base os valores médios do tempo de coagulação sanguínea (TC) e número de plaquetas dos animais do Grupo I (Controle), e comparando-os com aqueles relativos aos Grupos tratados com distintas preparações de betametasona (Grupos II e III), pode-se deduzir que não houve diferença entre os mesmos, pelo menos numa primeira análise.

O tratamento estatístico dos dados, inicialmente através de uma análise de variância, para cada tempo de estudo, confirmou tal observação. Ocorreram, entretanto, duas exceções:

1. O valor médio do TC dos animais do Grupo III (tratados com a associação de fosfato dissódico e acetato de betametasona), foi maior que aqueles encontrados nos demais grupos experimentais, no tempo de 168 horas de estudo.

2. O valor médio do número de plaquetas, no tempo de 24 horas pós-administração das soluções testadas, foi significativamente menor neste mesmo Grupo III, se comparado àquele obtido para os Grupo I (Controle).

Para ambos os casos, a aplicação do teste de TUKEY, que estabelece a diferença mínima significativa, ratificou estas afirmações.

Entretanto, apesar de existir esta diferença matemática entre os valores médios comparados, todos eles se situaram na faixa de normalidade biológica para o tempo de coagulação sanguínea (150 a 300 segundos) e número de plaquetas circulantes (450.000 a 700.000/mm³, em ratos.

Em outras palavras, a betametasona, na forma farmacêutica de depósito (empregado nos animais do Grupo III), não interferiu nos valores de auto-hemostasia estudados, podendo-se apenas sugerir que houve uma tendência para o aumento do TC, e diminuição da contagem de plaquetas, nos tempos de estudo anteriormente citados, sendo que os valores obtidos por animal estudado encontram-se dentro da faixa de normalidade biológica, em ratos.

Dentro da literatura especializada a respeito, estes achados encontram suporte no experimento de FAHEY (1951), que não observou alterações significantes no tempo de coagulação de pacientes, sadios ou enfermos, sob tratamento com ACTH.

Todavia, autores como SMITH et alii (1950) e Mc GRAW (1952), concluíram que o uso de corticosteróides por tempo prolongado, em pacientes hospitalizados, induzem a um aumento do tempo de coagulação sanguínea. Esta observação pode justificar a tendência da preparação de depósito de betametasona, empregada nos animais do Grupo III, em aumentar o TC no tempo de 168 horas, como discutido há pouco, desde que a meia-vida plasmática deste composto é de 3 a 4 dias.

Para caracterizar melhor a controvérsia sobre o assunto, COSGRIFF (1951), argumentou que os glucocorticosteróides, ao contrário, diminuem o tempo de coagulação sanguínea, considerando-os como fármacos indutores da hipercoagulabilidade, na dependência da dose e da duração do tratamento.

Trabalhos mais recentes reforçam tal hipótese, desde que JORGENSEN et alii (1982), demonstraram um aumento da atividade da cascata da coagulação sanguínea, em pacientes tratados com 7 a 60 mg/dia de prednisona. BLIX & JACOBSEN (1986), por sua vez, também relataram casos de hipercoagulabilidade sanguínea associados ao tratamento com a prednisona (administrada durante 3 semanas), em pacientes portadores de angiossarcoma de baço e síndrome de defribinação.

No que se refere especialmente à contagem de plaquetas, outro parâmetro de auto-hemostasia estudado neste trabalho, sua avaliação é essencial para a exata interpretação do tempo de sangramento, pois como observado por HARKER & SLICHTER (1972), a diminuição do número de plaquetas circulantes acarreta geralmente um prolongamento do tempo de sangramento.

Numa primeira análise, a betametasona, na dose única empregada na presente pesquisa, não alterou a contagem de plaquetas. SMITH et alii (1950) já haviam demonstrado que 20 mg de ACTH, em dose única, não alteravam este valor hematológico, em humanos sadios. Por outro lado, BLAJCHMAN et alii (1979), observaram uma diminuição do tempo de sangramento em indivíduos enfermos, sob tratamento prolongado com a hidrocortisona.

Aceito isto, torna-se coerente o conceito emitido por HARKER & SLICHTER (1972), no sentido de que em pacientes com função plaquetária normal, o tempo de sangramento se correlaciona com a contagem de plaquetas, porém em indivíduos com anormalidades plaquetárias qualitativas, o tempo de sangramento se apresenta aumentado com um número normal de plaquetas circulantes.

Resumindo-se tudo o que foi dito até agora, os corticosteróides, de maneira geral, são empregados na terapêutica médica em diferentes especialidades, obedecendo quase sempre esquemas posológicos com duração de dias, semanas ou até meses. Na Odontologia, de forma diferente, estes medicamentos quando indicados por via sistêmica, são administrados em dose única ou através de esquemas posológicos de curta duração. Fica então difícil comparar-se adequadamente os resultados obtidos na presente pesquisa com aqueles encontrados na literatura, pois a maioria dos autores quase sempre se preocupou em avaliar os efeitos colaterais, conseqüentes à uma administração crônica do ACTH, da hidrocortisona e de seus diferentes análogos sintéticos.

Restaria então ainda responder à pergunta:

"Por que o corticosteróide empregado, a betametasona, não alterou de forma significativa os valores de auto-hemostasia estudados, diferentemente da aspirina e similares, que inibem de forma irreversível ou reversível a síntese de tromboxanas pelas plaquetas, interferindo nos fenômenos hemostáticos, em diferentes graus?"

Analisando-se a farmacocinética dos corticosteróides, através de artigos de revisão como os de JOHNSON et alii (1982); KEHRL & FAUCI (1983); CLAMAN (1983) e ROTHHUT & RUSSO-MARIE (1984), constata-se que os mesmos, uma vez absorvidos e transportados através do plasma sanguíneo, irão exercer suas ações farmacológicas nas chamadas células-alvo. Após atravessarem a membrana destas células, provavelmente por difusão, combinam-se com receptores citoplasmáticos próprios, formando um complexo corticosteróide-receptor. Este complexo sofre então uma modificação conformacional, adquirindo a capacidade de migrar e penetrar no núcleo das células-alvo, onde se combina reversivelmente com locais específicos da cromatina. Em seguida, processa-se a transcrição de um RNA-mensageiro peculiar (efeito da ativação de um gene particular), que produz diretamente, já em nível citoplasmático, uma proteína também específica que, segundo estes autores, seria a efetora da ação dos corticosteróides.

De um modo geral, aceita-se que os corticosteróides induzem à formação de um grupo de proteínas, denominadas genericamente por lipocortinas, que têm a propriedade de inibir a fosfolipase A₂, diminuindo assim a produção dos metabólitos do ácido araquidônico, como as prostaglandinas e leucotrienos. Isto explica, em parte, a potente ação antiinflamatória da cortisona e seus derivados (JOHNSON et alii, 1982; CLAMAN, 1983).

Por outro lado, parece também estar bem estabelecido que a hemostasia constitui-se num complexo e eficiente sistema, que busca a interação entre respostas de vasos sanguíneos, plaquetas e fatores de coagulação, mediados intimamente pelos metabólitos do ácido araquidônico. Assim, alterações no metabolismo deste ácido graxo podem facilmente conduzir a anormalidades na hemostasia.

Partindo-se então do princípio de que os corticosteróides inibem a fosfolipase A₂, e que esta enzima pode ser ativada na membrana citoplasmática das plaquetas, desencadeando a síntese de ácido araquidônico e de seus metabólitos, seria de se esperar uma diminuição da formação de tromboxanas e, conseqüentemente, da agregação plaquetária.

Entretanto, PUUSTINEN et alii (1984), não encontraram diferenças nos níveis plasmáticos de tromboxanas em pacientes tratados com diferentes corticosteróides, quando comparados com um grupo controle. Em outras palavras, concluíram que a hidrocortisona, prednisolona e a dexametasona não apresentaram um efeito significativo na síntese de tromboxanas pelas plaquetas durante o fenômeno da coagulação sangüínea.

Tais autores argumentaram ainda que como os leucócitos têm a propriedade de sintetizar peptídeos induzidos pelos corticosteróides (lipocortinas), hábeis em inibir a atividade da fosfolipase, e desde que a tromboxana formada durante a coagulação sangüínea origina-se predominantemente das plaquetas, parece que as lipocortinas não são liberadas dos leucócitos em quantidades suficientes para inibir as atividades da fosfolipase plaquetária.

Pode-se ainda acrescentar que a síntese de proteínas inibitórias da fosfolipase, induzida pelos corticosteróides, já foi demonstrada em macrófagos e células intersticiais renomedulares de ratos e em neutrófilos de coelhos (ROTHHUT & RUSSO-MARIE, 1984), que possuem receptores citoplasmáticos específicos para estes fármacos. Como a síntese das lipocortinas dependem da síntese de um RNA-mensageiro, dentro do núcleo destas células, e sabendo-se que as plaquetas são nada mais do que fragmentos de megacariócitos (portanto anucleadas), é bastante tentador sugerir que os corticosteróides são incapazes de inibir a fosfolipase plaquetária.

Acredita-se que estes mecanismos descritos nos parágrafos anteriores possam dar suporte, pelo menos parcialmente, aos resultados obtidos na presente pesquisa. Todavia, futuros experimentos envolvendo o estudo dos efeitos dos corticosteróides sobre a função plaquetária devem ser elaborados na tentativa de ratificar ou não os achados aqui apresentados.

Espera-se que este trabalho tenha contribuído de alguma forma com relação ao uso clínico da betametasona, em dose única, em procedimentos clínicos que envolvam sangramento e que conseqüentemente, dependam de mecanismos de hemostasia inalterados.

CAPÍTULO VII - CONCLUSÃO

VII - CONCLUSÃO

Após a discussão dos resultados obtidos neste trabalho, e dentro das condições nas quais o mesmo foi realizado, pôde-se concluir o seguinte:

1. Os animais tratados com o fosfato dissódico de betametasona, na dose única de 0,1mg/Kg, não apresentaram alterações no tempo de coagulação sanguínea e no número de plaquetas circulantes.

2. O tratamento com preparação farmacêutica de depósito do mesmo corticosteróide (associação de fosfato disódico com o acetato de betametasona), na dose única de 0,1mg/Kg, em ratos, também não alterou os valores de auto-hemostasia estudados, com exceção dos tempos de 168 horas para o tempo de coagulação sanguínea, e de 24 horas para a contagem de plaquetas.

3. Embora as alterações constatadas nos tempos acima descritos, serem estatisticamente significantes ($p < 0,05$) os valores obtidos se situaram dentro das faixas de normalidade biológica do tempo de coagulação sanguínea e número de plaquetas circulantes, em ratos.

RESUMO

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da betametasona, empregada na forma de duas preparações farmacêuticas distintas, sobre alguns valores de auto-hemostasia.

Para tanto, foram utilizados 30 ratos Wistar, machos, divididos em 3 grupos experimentais, tratados (via IM) com solução de NaCl a 0,9% (Grupo Controle), fosfato dissódico de betametasona ou com a associação deste mesmo sal ao acetato de betametasona, que possibilita uma ação farmacológica de maior duração do glucocorticóide. Nos tempos de 1, 24, 48 e 168 horas após o tratamento, foram obtidas amostras de sangue e avaliado o tempo de coagulação sanguínea e o número de plaquetas circulantes. Os resultados obtidos demonstraram que o fosfato dissódico de betametasona, na dose única de 0,1mg/kg, não alterou os parâmetros de auto-hemostasia estudados. Quando a mesma dose da preparação farmacêutica de depósito de betametasona foi empregada, observou-se apenas um discreto aumento do tempo de coagulação e uma pequena diminuição da contagem de plaquetas, respectivamente nos tempos de 168 e 24 horas. Apesar destas alterações serem estatisticamente significantes ($p < 0,05$), os valores encontrados situaram-se dentro das faixas de normalidade biológica do tempo de coagulação sanguínea e contagem de plaquetas, em ratos.

SUMMARY

SUMMARY

The aim of this paper was to study the effects of two distinct pharmaceutical preparations of betamethasone, upon the values of auto-hemostasis.

To do so, 30 male Wistar rats were used, divided in 3 experimental groups, treated with normal saline, betametasone dissodium phosphate or with this salt associated with betametasone acetate. After 1, 24, 48 and 168 hours of these distinct treatments, blood samples were obtained and avaliated the clotting time and platelet count.

The results showed no interference of the betamethasone dissodium phosphate (0,1 mg/kg), in the values of the auto-hemostasis parameters studied. In the animals treated with the depot preparations of betamethasone, there was a discret increase of the clotting time and a little decrease of the platelet count, in the times of 168 and 24 hours, respectively.

In spite of this alterations are statistically significant ($p < 0,05$), these values are situated in biological normal ranges for the clotting time and platelet count, in rats.

CAPÍTULO VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AASEN, A.O. et alii. Modulation of the proteolytic cascade systems by high dose corticosteroids. Acta chir. Scand., 526(Suppl.): 56-65, 1985.
- ALMEIDA, F.M. Estudo clínico comparativo dos efeitos de duas preparações distintas de betametasona, sobre as complicações decorrentes da remoção de terceiros molares retidos. Piracicaba, 1990. 90p. [Tese (Mestrado) - FOP - UNICAMP].
- ANDRADE, E.D. Estudo histológico e histofotométrico de tecido de granulação de ratos em condições normais e sob a ação de drogas antiinflamatórias. Piracicaba, 1980. 48 p. [Tese (Mestrado) - FOP - UNICAMP].
- _____. Efeitos antiinflamatórios da betametasona em preparações e posologias diferentes. Estudo experimental. Piracicaba, 1985. 87 p. [Tese (Doutorado) - FOP - UNICAMP].
- AXELROD, L. Glucocorticoid therapy. Medicine, 55(1): 39-65, 1976.
- _____. Inhibition of prostacyclin production mediates permissive effect of glucocorticoids on vascular tone. Lancet, 23: 904-6, 1983.
- BAHN, S.L. Glucocorticosteroids in dentistry. J. Am. dent. Ass., 105(3): 476-81, 1982.
- BELLANTI, J.A. Immunology II. Philadelphia, W.B. Saunders, 1978. p.746-57.
- BLAJCHMANN, M.A. Shortening of the bleeding time in rabbits by hidrocortisone caused by inhibition of prostacyclin generation by the vessel walls. J. clin. Invest., 63: 1026-35, 1979.

- BLIX, S. & JACOBSON, C.D. Intravascular coagulation, a possible accelerating effect of prednisone. Acta med. Scand., 180: 723-8, 1966.
- BRECHER, G. & CRONKITE, E.P. Morphology and enumeration of human blood platelets. J. appl. Physiol., 3: 365, 1950.
- BRUNETAUD, J.M. et alii. Iatrogenic pathology in hematology. Maroc. med., 52: 135-47, 1972.
- CACI, F. & GLUCK, G. M. Double-blind study of prednisolone and papase as inhibitors of complications after oral surgery. J. Am. dent. Ass., 93: 325-7, 1976.
- CEPELAK, V. et alii. Chemical induction of fibrinolysis and inhibition of platelet aggregation (with especial respect to effect of nonsteroid antiinflammatory drugs). Acta. Univ. Carol. Med. (Monogr.) (Praha), 52: 41-7, 1972.
- CLAMAN, H.N. Glucocorticoids I: Anti-inflammatory mechanisms. Hosp. pract., 18(7): 123-6, 131-4, 1983.
- COSGRIFF, S.W. Thromboembolic complications associated with ACTH and cortisone therapy. J. Am. med. Ass., 147: 924-6, 1951.
- CROSSLEY, H.L.; BERGMAN, S.A.; WYNN, R.L. Nonsteroidal anti-inflammatory agents in relieving dental pain: a review. J. Am. dent. Ass., 106: 61-4, 1983.
- DUJOVNE, C.A. & AZARNOFF, D.L. Clinical complications of the corticosteroid therapy. Med. Clins N. Am., 57(5): 1331-42, 1973.
- DELEDJAM, J.J. et alii. Physiology of hemostasis. Annls. fr. Anesth. Reanim., 4(3): 35A-42A, 1985.
- EVANS, G. et alii. The effect of acetylsalicylic acid on platelet function. J. exp. Med., 128: 877, 1968.

- FAHEY, J.L. Effect of ACTH on whole blood coagulability. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 77: 491-4, 1951.
- FORESTIER, F. & SAMANA, M. L'exploration préopératoire simple de l'hémostase. Actual. Odonto. stomatol., (PARIS), 110: 241-5, 1975.
- FOULKE, C.N. Gingival haemorrhage related to aspirin ingestion. J. Periodont., 355-7, 1976.
- GREENFIELD, W. & CARUSO, W.A. Systemic use of steroids following office oral surgery. N. Y. St. dent. J., 42: 482-5, 1976.
- GRÜNER, O.P.N. & ENDRESEN, G.K.M. Platelet count and platelet stickiness in rats. Thrombos Diathes Haemorrh (Stuttg), 26: 389-92, 1971.
- HARKER, L.A. & SLICHTER, S.J. The bleeding time as a screening test for evaluation of platelet function. New Engl. J. Med., 287: 155, 1972.
- HENCH, P.S. et alii. The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxy-11 dehydrocorticosterone: compound E) - and pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatoid - arthritis - preliminary report. Ann. rheum. Dis., 8: 97-104, 1949.
- HEPSO, H.U. et alii. Double-blind crossover study of the effect of acetylsalicylic acid on bleeding and postoperative course after bilateral oral surgery. Eur. J. clin. Pharmac., 10: 217-25, 1976.
- HIRATA, F. et alii. A phospholipase A2 inhibitory protein in rabbit neutrophils induced by glucocorticoids. Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A., 77: 2533-6, 1980.
- _____ et alii. Identification of several species of phospholipase inhibitory proteins by radioimmunoassay for lipomodulin. Biochem. biophys. Res. Commun., 109: 223-30, 1982.

- HOOLEY, J.R. & FRANCIS, F.H. Bethamethasone in traumatic oral surgery. J. oral Surg., 27: 398-403, 1969.
- HUFFMAN, G.G. Use of methylprednisolone sodium succinate to reduce postoperative edema after removal of impacted third molars. J. oral Surg., 35: 198-9, 1977.
- JACKSON, D.L.; MOORE, P.A.; HARGREAVES, K.M. Preoperative nonsteroidal anti-inflammatory medication for the prevention of postoperative dental pain. J. Am. dent. Ass., 119: 642-47, 1989.
- JOHNSON, L.K. et alii. Glucocorticoid action: a mechanism involving nuclear and non-nuclear pathways. Br. Jour. Dermatol., 107(23): 6-23, 1982.
- JORGENSEN, K.A. et alii. Effect of glucocorticosteroids on some coagulation tests. Acta Haemat., 68(1): 39-42, 1982.
- KEHRL, J.H. & FAUCI, A.S. The clinical use of glucocorticoids. Ann. Allergy, 50(1): 2-10, 1983.
- LEWIS, J.H. et alii. Comparative hematology and coagulation: studies on rodentia (rats). Comp. Biochem. Physiol.; Pt. A, 82(1): 211-5, 1985.
- LINEMBERG, W. The clinical evaluation of dexamethasone in oral surgery. Oral Surg., 20(1): 6-28, 1965.
- McGRAW, A.B.; MARGULIS, R.R.; BRUSH, B.E. Twofold effect of corticotropin (ACTH) on blood clotting and its implications in surgery. A.M.A., 65: 81-7, 1952.
- MacMILLAN, D.C. & SIM, A.K. A comparative study of platelet aggregation in man and laboratory animals. Thrombos Diathes. Haemorrh (Stuttg), 24: 385-94, 1970.

- MAILLARD, P. Intérêt de la connaissance des prostaglandines, pour l'odonto-stomatologie, leur rôle dans l'hémostase primaire et dans l'inflammation. Acta odont. stomat., 145: 95-120, 1984.
- MARSHALL, J.G. & WALTON, R.E. The effect of intramuscular injection of steroid on posttreatment endodontic pain. J. Endodont., 10(12): 584-8, 1984.
- MARTINDALE: The extra pharmacopoeia. 29. ed. London, The Pharmaceutical Press, 1989.
- MESSER, E.J. & KELLER, J.J. The use of intraoral dexamethasone after extraction of third molars. Oral Surg., 40(5): 594-8, 1975.
- MICHALEVICZ, R. & SELIGSOHN, U. Artheritis Rheum., 25: 599, 1982.
- MIELKE, C.H. Influence of aspirin on platelets and the bleeding time. Am. J. med., 14: 72-8, 1983.
- NUOTTO, et alii. Eur. J. clin. Pharmac., 25: 313, 1983. In: MARTINDALE: The extra pharmacopoeia, 29. ed., London, The Pharmaceutical Press, 1989.
- O'BRIEN, J. R. Effects of salicylates on human platelets. Lancet, 1: 779, 1968.
- OLIVEIRA, I.R. Corticosteróides: farmacologia e uso clínico. Folha méd., 86(3): 129-38, 1983.
- PELISSIER, A. et alii. Physiologia de L'hémostase. Actual. odontostomat., 166: 259-69, 1989a.
- PELISSIER, A.; ROCHE, Y.; RAJABO. Exames biologiques préopératoires de l'hémostase. Indications, interprétations. Actual. Odontostomat., 166: 271-86, 1989b.

- PUUSTINEN, T. et alii. Glucocorticoids do not decrease thromboxane and prostacyclin levels in human blood. Prostagl. Leukot. Med., 15: 409-10, 1984.
- REDDING, S.W. & OLIVE, J.A. Relative value of screening tests of hemostasis prior to dental treatment. Oral Surg., 59(1): 34-6, 1985.
- ROSS, R. & WHITE, C.P. Evaluation of hydrocortisone in prevention of postoperative complications after oral surgery: a preliminary report. J. oral Surg., 16: 220-6, 1958.
- ROTHHUT, B. & RUSSO-MARIE, F. Novel concepts in the mode of action of anti-inflammatory steroids. Agents Actions (Suppl), 14: 171-80, 1984.
- SABBAGHI, A. Efeitos colaterias das drogas antiinflamatórias sobre os valores hematológicos e os fatores da auto-hemostasia. Parte 1. Ars Curandi Odont., 5(7): 4-14, 1978.
- _____. Efeitos colaterais das drogas antiinflamatórias sobre os valores hematológicos e os fatores da auto-hemostasia. Parte 2. Ars Curandi Odont., 5(8): 4-16, 1978.
- SABRAZES, J. Procédés pratiques pour determine au lite malade le début de la coagulation du sang et pour facilites l'examen du caillot du serum. Folia. Haemt., 1: 394, 1904.
- SISK, A.L. & BONNINGTON, G.J. Evaluation of methylprednisolone and fluorbiprofen for inhibition of the post-operative inflammatory response. Oral Surg., 60(2): 137-45, 1985.
- SMITH, J.B. & WILLIS, A.L. Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. Nature, 231: 235-8, 1971.

- SMITH, R.W. et alii. The influence of ACTH and cortisone on certain factors of blood coagulation. Science, 112: 295, 1950.
- SOUZA, P.M. Efeitos da betametasona na glicemia de ratos normais e diabéticos-aloxânicos. [no prelo]
- SPILKA, C.J. Place of corticosteroids and antihistamines in oral surgery. Oral Surg., 14: 1034, 1961.
- STUART, M.J. Platelet function in recipients of platelet from donors ingesting aspirin. New Engl. J. Med., 287: 1105, 1972.
- TOROSIAN et alii. Ann intern. Med., 89: 325, 1985. In: MARTINDALE: The extra pharmacopoeia, 29. ed., London, The Pharmaceutical Press, 1989.
- VAN DER ZWAN, J. et alii. The lower third molar and antiphlogistics. Int. J. oral Surg., 11: 340-50, 1982.
- VANE, J.R. & FERREIRA, S.H. Antiinflammatory drugs. Berlin, Springer-Verlag, 1979. p.378.
- VOLPATO, M.C. Efeitos de duas formas farmacêuticas de betametasona sobre o processo de reparação alveolar dental. Estudo histológico em ratos. Piracicaba, 1991. 49 p. [Tese (mestrado), FOP - UNICAMP].
- WARD, T. (letter). Br. med. J., 4: 430, 1969. In: MARTINDALE: The extra pharmacopoeia, 29. ed., London, The Pharmaceutical Press, 1989.
- WEINTRAUB, S. et alii. Clin. Pharmac. Ther., 23: 134, 1978. In: MARTINDALE: The extra pharmacopoeia, 29. ed., London, The Pharmaceutical Press, 1989.

WEISS, H.J.; ALEDORT, L.M.; KOCHWA, S. The effects of salicylates on the hemostatic properties of platelets in man. J. Clin. Invest., 47: 2169, 1968.

ZUCKER, M.B. & PETERSON, J. Effect of acetylsalicylic acid, other nonsteroidal anti-inflammatory agents, and dipyridamole on human blood platelets. J. Lab. Clin. med., 76: 66, 1970.

APÉNDICE

APÊNDICE

TABELA 1.1. - Valores do tempo de coagulação sanguínea (em segundos), por animal estudado, e suas respectivas médias, nos diferentes grupos de estudo, no tempo de 1 hora.

ANIMAL	GRUPO		
	I	II	III
	(SALINA)	(CELESTONE)	(CEL. SOLUSPAN)
01	225	240	270
02	150	255	255
03	285	225	300
04	255	225	285
05	270	285	255
06	330	315	300
07	300	225	300
08	255	255	300
09	165	300	285
10	195	240	285
\bar{x}	243	256.5	283.5

TABELA 1.2. - Valores do tempo de coagulação sanguínea (em segundos), por animal estudado, e suas respectivas médias, nos diferentes grupos de estudo, no tempo de 24 horas.

ANIMAL	GRUPO		
	I	II	III
	(SALINA)	(CELESTONE)	(CEL. SOLUSPAN)
01	225	240	195
02	240	210	255
03	210	240	210
04	210	270	210
05	240	180	240
06	240	210	225
07	225	210	165
08	210	210	265
09	240	240	165
10	270	240	255
\bar{x}	231	225	217.5

TABELA 1.3. - Valores do tempo de coagulação sanguínea (em segundos), por animal estudado, e suas respectivas médias, nos diferentes grupos de estudo, no tempo de 48 horas.

ANIMAL	GRUPO		
	I	II	III
	(SALINA)	(CELESTONE)	(CEL. SOLUSPAN)
01	210	210	255
02	210	180	270
03	210	255	255
04	210	240	210
05	210	225	240
06	255	240	210
07	240	210	180
08	240	240	285
09	270	210	180
10	240	210	270
\bar{x}	229.5	222	235.5

TABELA 1.4. - Valores do tempo de coagulação sanguínea (em segundos), por animal estudado, e suas respectivas médias, nos diferentes grupos de estudo, no tempo de 168 horas.

ANIMAL	GRUPO		
	I	II	III
	(SALINA)	(CELESTONE)	(CEL. SOLUSPAN)
01	210	285	210
02	225	240	270
03	225	225	230
04	210	240	270
05	240	210	345
06	225	210	270
07	255	210	300
08	210	270	255
09	240	225	285
10	255	270	300
\bar{x}	229.5	238.5	283.5

TABELA 2.1. - Valores da contagem de plaquetas (número relativo), por animal estudado, e suas respectivas médias, nos diferentes grupos de estudo, no tempo de 1 hora.

ANIMAL	GRUPO		
	I	II	III
	(SALINA)	(CELESTONE)	(CEL. SOLUSPAN)
01	395	530	557
02	601	573	498
03	651	461	455
04	456	495	563
05	343	525	471
06	483	492	567
07	595	326	491
08	578	482	484
09	603	491	485
10	598	459	485
\bar{x}	530.3	483.4	505.6

TABELA 2.2. - Valores da contagem de plaquetas (número relativo), por animal estudado, e suas respectivas médias, nos diferentes grupos de estudo, no tempo de 24 horas.

ANIMAL	GRUPO		
	I	II	III
	(SALINA)	(CELESTONE)	(CEL. SOLUSPAN)
01	513	476	532
02	479	567	503
03	435	511	502
04	577	502	531
05	552	493	499
06	605	470	616
07	638	535	452
08	629	546	519
09	571	524	402
10	662	507	503
\bar{x}	566.1	513.1	505.9

TABELA 2.3. - Valores da contagem de plaquetas (número relativo), por animal estudado, e suas respectivas médias, nos diferentes grupos de estudo, no tempo de 48 horas.

ANIMAL	GRUPO		
	I	II	III
	(SALINA)	(CELESTONE)	(CEL. SOLUSPAN)
01	284	524	576
02	514	525	530
03	523	545	558
04	595	456	569
05	525	499	514
06	571	495	525
07	492	573	510
08	502	526	577
09	505	541	500
10	543	532	539
\bar{x}	505.4	521.6	539.8

TABELA 2.4. - Valores da contagem de plaquetas (número relativo), por animal estudado, e suas respectivas médias, nos diferentes grupos de estudo, no tempo de 168 horas.

ANIMAL	GRUPO		
	I	II	III
	(SALINA)	(CELESTONE)	(CEL. SOLUSPAN)
01	365	565	552
02	550	505	540
03	542	488	574
04	478	512	584
05	505	478	465
06	625	570	553
07	521	582	586
08	533	550	604
09	562	585	457
10	608	627	300
\bar{x}	528.9	546.2	521.5