

MARA SILVIA SALDINI BUSATO

- Cirurgiã - Dentista -

EFEITO DE ANTI-INFLAMATÓRIOS ENZIMÁTICOS
(BROMELINA, ESCINA E PAPAÍNA) NO DESENVOLVIMENTO
CRÂNIO-FACIAL DE RATAS

*Exemplar devolvido
e corrigido de
de acordo com a Resolução
CC PG/036/83,
Piracicaba, 03 de junho
de 1985.*

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia (Bases Farmacológicas para a Terapêutica Medicamentosa).

PIRACICABA
1985

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

A meus pais,

EDGAR e IVETTE,

que através da vida me proporcionaram
as honras desta conquista,

A minha irmã,

MARCIA REGINA,

que sem sua compreensão, paciência e
apoio profissional, tornar-se-ia
impossível a finalização de
mais esta etapa,

ofereço este trabalho.

Ao Professor Doutor SAMIR TUFIC ARBEX,
a quem sinceramente devo e agradeço a oportunidade
de mais esta conquista. Não só pela compreensão,
confiança e estímulo, como também pela orientação
ampla, segura e eficaz,

minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. JOSÉ ARISTODEMO PINOTTI, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas, pela atenção e incentivo dispensados àqueles que se dedicam ao ensino e à pesquisa.

Ao Prof. Dr. ANTONIO CARLOS NEDER, Digníssimo Coordenador Geral das Faculdades da UNICAMP, e criador do curso de Pós-Graduação de Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo muito que tem feito pelo ensino e pesquisa em nossa Faculdade.

Ao Prof. Dr. LUIZ VALDRIGHI, Ilustre Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, pelo estímulo ao contínuo aperfeiçoamento científico.

Aos Professores do curso de Pós-Graduação, Drs. AMADO LEONÍSIO DE AZEVEDO, MARIA DE LOURDES GARBOGGINI DA GAMA, EDUARDO DIAS DE ANDRADE, JOSÉ RANALI, JOÃO LEONEL JOSÉ e THALES ROCHA DE MATTOS FILHO, que com amizade e dedicação, muito contribuíram para minha formação científica.

Ao Prof. Dr. JAIME APARECIDO CURY, pelas orientações prestadas com precisão e eficiência.

À Prof.^a Dr.^a SONIA VIEIRA e ao Sr. RONALDO SEICHI WADA, pela revisão, auxílio e orientação na parte estatística.

Ao Prof. Dr. AMADO LEONÍSIO DE AZEVEDO, Chefe do Departamento

to de Ciências Fisiológicas.

À colega LURDES CATARINA SILVA MARÇAL, pelo compartilhar de sugestões, idéias, e por proporcionar a oportunidade de realizar esta pesquisa.

Ao colega, Dr. GUSTAVO PECCININI JR., pelo compartilhar na parte experimental.

À amiga KYIOMI KIMPARA, pelo companheirismo, pela motivação e pelos exemplos de determinação e constância no dia-a-dia do transcorrer de todo o curso.

À amiga-irmã LUCIA FARIAS, pelo apoio, conforto, carinho e amizade, que me proporcionaram forças para atingir os meus ideais.

À Sr.^a MARIA DE LOURDES BRUNELLI, pela realização dos desenhos e gráficos deste trabalho.

Ao Sr. MOYSÉS JOSÉ MARIA DA SILVA, pelo auxílio na parte experimental.

À Sr.^a SONIA MARIA A. SIMIONATO VICTÓRIA FÁVERO, pelos méritos datilográficos neste trabalho.

Ao Sr. ADÁRIO CANGIANI, pelo capricho na elaboração fotográfica.

Ao Sr. NADIR TASSI, técnico de laboratório do Departamento

de Anatomia da Universidade Metodista de Piracicaba, pelo auxílio prestado na dissecação das peças para esta pesquisa.

À Sr.^a IVANY DO CARMO GUIDOLIM GEROLA, pela revisão bibliográfica.

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

SUMÁRIO

	p.
1. INTRODUÇÃO	2
2. PROPOSIÇÃO	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
4. RESULTADOS	24
5. DISCUSSÃO	52
6. CONCLUSÕES	57
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	59

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A inflamação é um sintoma patognomônico de uma injúria ao organismo.

Esses processos podem ser clinicamente: agudos ou crônicos; histologicamente: vasculares ou celulares e etiologicamente: infecciosos, imunológicos, traumáticos ou tóxicos. Pode, inclusive, haver a concomitância de todos eles.

O processo infeccioso produz toxinas como produto de seu metabolismo e agindo sobre os macrófagos, produz fatores quimiotáticos (coagulase e colagenase), que podem funcionar como agentes imunológicos.

O processo imunológico se desencadeia pela ação dos anticorpos sobre os antígenos, determinando a fixação do componente ou, pela ação dos linfócitos, que transformando-se em linfoblastos produzem linfocina, que é importante na migração dos macrófagos.

O tipo de inflamação produzida por agentes tóxicos, assemelha-se ao dos agentes imunológicos e dos agentes infecciosos. Eles atuam sobre a permeabilidade capilar, modificando o pH, produzindo desequilíbrio osmótico, dando como resultado a tumefação.

O processo traumático, por uma desorganização do endotélio, produz a ruptura capilar e celular, liberando enzimas hidrolíticas e proteolíticas, com formação de produtos de degeneração do colágeno. Isto ativa a agregação plaquetária e produz o afluxo dos polimorfos nucleares.

Ocorre também a lise celular, provocando o aparecimento de histamina e serotonina que, juntamente com processos cromatínicos, desencadeiam a liberação de fatores como a prostaglandina e bradicinina, que são atuantes diretas dos fatores osmóticos e ácido-base.

Tudo isto, mais o extravasamento capilar e o aumento dos espaços intersticiais, resultam, clinicamente, em aumento da temperatura local, vermelhidão, tumefação e dor (PRESTES²⁷, 1979).

Por isso, a utilização de drogas no combate à inflamação ocupa hoje um lugar de destaque na terapêutica e, nos últimos anos, tem-se acelerado o seu desenvolvimento.

As drogas anti-inflamatórias atualmente são divididas em três grandes grupos, segundo SABBAGH³⁰, 1978:

1. Esteróides - constituído por hormônios corticais das supra-renais, hormônio adeno-corticotrófico (ACTH) do lobo anterior da hipófise, e os vários produtos sintéticos análogos.

2. Não esteróides e não enzimáticos ou substâncias antiflogísticas - composto pelos derivados salicílicos, pirazolônicos, fenotiazínicos, do ácido mefenâmico, do ácido niflúmico, indometacina, benzinamida, os antihistamínicos e outros.

3. Enzimáticos (enzimas proteolíticas) - formado pela hialuronidase, tripsina, quimiotripsina, alfaqui miotripsina, estreptoquinase, estreptodornase, bromelinas, papaína e escina.

Como vimos, são inúmeros os compostos anti-

inflamatórios atualmente em uso. Esta grande quantidade de produtos acaba levando a um uso abusivo pela população, às vezes sem conhecer seus efeitos colaterais no organismo. Em vista disso, sempre que seja necessária a utilização de um anti-inflamatório, devemos levar em consideração uma série de fatores, que podem induzir ao aparecimento de efeitos colaterais indesejados.

Os esteróides, por exemplo, apresentam uma variada gama de efeitos colaterais, que são: cataratas, urticária, púrpura, reações anafilactóides, aumento do tempo de coagulação, pseudo-tumor cerebral, bloqueio da cortisona pelo ACTH, que pode levar as supra-renais ao colapso, espoliação do potássio com retenção de sódio, redução da síntese de mucopolissacarídeos no tecido de granulação, retardando a cicatrização, impedem a proliferação dos fibroblastos, redução da resposta antígeno-anticorpo, linfocitopenia, redução da resistência à infecção com agravamento de moléstias a vírus, acidose, hipersecreção gástrica e alteração do metabolismo glicídico, que pode levar à hiperglicemia. Apud SINCLAIR ARAUZ³³, 1982.

MILLER²³, 1978, na sua revisão sobre analgêsicos e anti-inflamatórios não esteróides, ressalta que os salicílicos, quando usados em doses baixas, são praticamente inócuos, mas que em doses elevadas podem causar numerosos efeitos tóxicos, tais como: náusea, vômito, dermatite, surdez, vertigem, 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 ácido flufenâmico

podem provocar o aparecimento de alterações do trato gastro intestinal, tais como: náusea, vômito e diarreia, em aproximadamente 15% dos casos; os derivados do aminofenol têm efeitos colaterais semelhantes aos salicílicos; 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 diarreia.

Quanto às enzimas proteolíticas, PRESTES²⁷, em 1979, diz que elas 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 ocorrência de idiosincrasias.

Em vista do exposto, faremos, mais detalhadamente, algumas considerações sobre os anti-inflamatórios enzimáticos, de origem vegetal, que serão motivo deste trabalho.

BROMELINA

São quatro enzimas proteolíticas muito semelhantes, obtidas do caule e fruta da planta monocotiledônea *Ananas comosus*, vulgo abacaxi. MARTIN²⁰ e cols., 1962.

O autor cita que a bromelina age sobre diversos substratos, que incluem as matérias proteicas, como a

gelatina, caseína, colágeno, elastina, globulinas e fibras musculares, e que o pH, em torno de 7, é o melhor para a atividade proteolítica da bromelina.

NEUBAUER²⁵ (1961) e VESPA³⁷ (1966) verificaram que quando utilizavam a bromelina associada a antibióticos, seus efeitos eram muito mais eficazes.

NEUBAUER²⁵ (1961); GIACCA⁹ (1964); PEREGALLI²⁶ (1964); SIRTORI³⁴ (1964) e outros, demonstraram que a bromelina é otimamente aceita pelo trato gastro-intestinal e que não provoca nenhum efeito colateral indesejável.

Novamente MARTIN²⁰ e cols., em 1962, comprovaram que em condições iguais de dosagem, a bromelina é superior aos outros anti-inflamatórios, tais como a papaína, proteases de fungos, tripsina, etc.

Esses mesmos autores, em estudos laboratoriais, demonstraram que a bromelina, administrada por via oral, não apresentava DL₅₀ em ratos e camundongos, e que mesmo em doses elevadíssimas, de até 10 (dez) gramas por quilo de peso, nenhum efeito desagradável foi observado com relação à toxicidade aguda. Por via intravenosa a DL₅₀, para camundongos, é de 30 (trinta) a 35 (trinta e cinco) mg/kg, e para coelhos, 20 (vinte) mg/kg; por administração intraperitoneal é de 36,7 mg/kg para camundongos, e de 85,2 mg/kg para ratos, doses essas muito elevadas em comparação com outros anti-inflamatórios.

A toxicidade crônica foi testada, também, por MARTIN²⁰ e cols., em 1962, dando 1,0 (um) por cento de bromelina, por via oral, durante três meses, não se observou aumento de peso significativo entre os animais tratados e os

animais do grupo controle. Também não houve alterações nas composições morfológicas e químicas do sangue, nem alterações patológicas nos órgãos vitais.

SELTGER³¹, 1964, em estudo controlado em 53 (cinquenta e três) casos de rinoplastia, constatou que a bromelina oferece uma acentuada proteção contra o edema pós-cirúrgico.

MAMMARELLA¹⁸, 1964, 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.

FATINI⁷, em 1967, afirma que a bromelina é inócua, mesmo em doses elevadas.

DEMARTIN³, 1972, comparou em 56 (cinquenta e seis) pacientes, a atividade da tetranase, associação da bromelina com tetraciclina, e da tetraciclina sozinha, e verificou ser a tetranase superior, pois a bromelina potencializou a ação da tetraciclina.

RENZINI E VARENGO²⁸, 1972, comprovaram que a bromelina potencia os antibióticos em aproximadamente 200% e que o antibiótico atingia níveis séricos mais elevados e permanecia nos fluidos orgânicos por muito mais tempo.

ESCINA

É uma mistura de glucosídeos e rahnmosídeos obtida do *Aesculus hippocastanum*, vulgo castanha da Índia.

Farmacologicamente, a escina modifica a capa

cidade exsudativa da membrana capilar, sem alterar o equilíbrio das macromoléculas do plasma, desenvolvendo ação detumescente, antiedematosa e anti-inflamatória, nos tecidos afetados. Em suma, a escina atua de preferência sobre a membrana capilar, promovendo retorno da permeabilidade, combatendo a inflamação e melhorando as condições circulatórias. GOLDENBERG¹¹, 1979.

EVERSMANN⁵, em 1960, trabalhando com 140 (cento e quarenta) pacientes, na dosagem de 10-20 mg diárias durante 4-5 dias, verificou um caso de exantema alérgico e um caso de forte sensação de vômito.

SIERING³², 1962, verificou que a escina modificava a capacidade exsudativa da membrana celular, alterando o equilíbrio sódio-potássio, liberando potássio e retraindo sódio. Em 1961, esses autores já tinham estabelecido que a escina provocava uma variação da permeabilidade capilar.

LUCAS¹⁶, 1963, observou que em doses de até 10 (dez) mg por dia, a escina apresenta boa tolerância, sem que haja manifestações alérgicas.

Em 1968, MAGLIULO¹⁷ e cols. verificaram que mesmo que a escina induzisse 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 não tinha efeitos indesejados sobre a medula óssea.

KOBERG¹³, 1968, em pesquisas realizadas com pacientes, observou que 4% dos mesmos apresentaram sinais de intolerância gástrica.

Em 1970, VOGEL³⁹ e cols., em pesquisas labo

ratoriais, acharam que a escina, quando usada em doses elevadas, provocava toxicidade aguda, com a morte do animal, devido à intensa hemorragia. Apresentava também toxicidade crônica, quando utilizada em tratamentos longos, com doses pequenas, provocando a morte dos animais, provavelmente pela atividade tóxica cerebral da escina.

LOCKS¹⁵, 1974, verificou que a escina provoca uma contração lenta e irreversível das veias (em bovinos e humanos), quando usada em doses elevadas.

GOLDENBERG¹¹ e col., 1979, afirmam que a escina não provoca alterações patológicas nos tecidos, nem com prometimentos hemolíticos, nem teratogênicos.

PAPAÍNA

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

As preparações comerciais da papaína têm três formas de enzima: 1) enzima ativa; 2) enzima inativa, ativável; 3) enzima inativa, não ativável. GLICK¹⁰ e col., 1976.

A papaína é obtida por precipitação, utilizando cloreto de sódio e pela cromatografia de afinidade do precipitado redissolvido. BURKE¹ e cols., 1974.

Os efeitos colaterais dessa droga são bastante grandes, de acordo com vários autores, tais como:

MARTIN¹⁹ e cols., em 1957, ao efetuarem estudos comparativos em ratos, com outros seis anti-inflamató

rios, acharam que tanto a tripsina quanto a quimiotripsina são mais efetivas que a própria papaína na diminuição do edema, quando injetadas no trato intestinal.

McCLUSKEY²² e col., 1958, verificaram que a papaína causa alterações na matriz da cartilagem, "in vivo", em experiências efetuadas em coelhos.

Em 1959, ENGFELDT⁴ e cols. 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 diáfise, mas que a papaína tinha essa seletividade pela cartilagem dos cães em crescimento e não pela cartilagem de cães adultos.

MERKOW²¹ e col., em 1961, verificaram que a papaína produz fechamento prematuro da placa epifisiária, com retardamento no crescimento longitudinal dos ossos longos, provocando, também, rigidez da coluna vertebral e malformações do tórax. Aparentemente essas malformações decorrem da clivagem do condroitinsulfato da cartilagem, pois há um aumento desse componente na urina do animal de laboratório, após injeção de papaína.

THOREK³⁶ e col., 1974, 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.

SNIDER³⁵ e cols., em 1974, verificaram que a papaína, inalada em pequenas doses, provoca enfisema em hamsters, coelhos e cachorros.

KVINNSLAND¹⁴, 1974, comprovou que em ratos em

crescimento, submetidos a doses repetidas de papaína, esta droga, agindo sobre a cartilagem, causava redução do crescimento crânio-facial e que age também sobre zonas de crescimento epifisial em coelhos, gatos, ratos, cães e camundongos.

Já MILNE²⁴ e col., em 1975, verificaram que a papaína quando inalada, além de enfisemas pulmonares, causa também reações asmáticas agudas.

Em 1976, CACI² 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 terceiros molares.

SINCLAIR ARAUZ³³, 1982, trabalhando com várias enzimas de origem vegetal, em cirurgia, concluiu que o tempo de recuperação dos animais tratados com bromelina e escina é menor que o dos animais tratados com papaína.

Quanto à segurança da papaína, existe um grande número de trabalhos, que levam a concluir que a papaína é de grande toxicidade. McCLUSKEY²² e cols., 1958; ENGFELDT⁴ e cols., 1959; MERKOW²¹ e col., 1961; SNIDER³⁵ e col., 1974; KVINNSLAND¹⁴, 1974; e MILNE²⁴ e col., 1975.

2. PROPOSIÇÃO

2. PROPOSIÇÃO

Com base nos relatos anteriores, este trabalho tem por objetivo, estudar os efeitos colaterais que os anti-inflamatórios enzimáticos, de origem vegetal (bromelina, escina e papaína), possuem sobre o desenvolvimento ósseo crânio-facial de ratos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL

3.1.1. ANIMAIS

Este trabalho foi desenvolvido com a utilização de 53 (cinquenta e três) animais, *Rattus norvegicus*, variedade albinos, Rodentia Mammalia, da linhagem Wistar.

No início do trabalho, utilizamos 20 (vinte) ratas, que foram acasaladas e divididas em 4 (quatro) grupos.

O restante dos 33 (trinta e três) animais, resultado da prenhez dos 4 (quatro) grupos acima citados, foi subdividido em 5 (cinco) sub-grupos de 5 (cinco) animais e 2 (dois) sub-grupos de 4 (quatro) animais.

3.1.2. MATERIAL UTILIZADO

- . Seringas (Luer) centesimais de 1,0 ml
- . Agulhas hipodérmicas "descartáveis" 40/6
- . Bisturi e lâminas 3 e 4
- . Campânulas de vidro
- . Tesoura cirúrgica
- . Pinça cirúrgica
- . Balança de laboratório (mg)
- . Balança milimétrica

- . Frascos variados
- . Mesa cirúrgica para ratos
- . Algodão
- . Gase
- . Filmes fotográficos
- . Lupa
- . Paquímetro

3.1.3. DROGAS UTILIZADAS

- . Bromelina - Laboratório Sintofarma - em pó cristalizado;
- . Escina - "Reparil^(R)" - Laboratório Lorenzini;
- . Papaína - "Tromasin^(R)" - Laboratório Warner;
- . Solução salina - 0,9% - NaCl
- . Éter sulfúrico - Indofarma Indústria e Comércio de Produtos Químicos;
- . Peróxido de Hidrogênio - H₂O₂ - 130 volumes - 10% - Qeel Indústrias Químicas.

3.1.4. DOSAGEM ADMINISTRADA

As doses administradas são de uso terapêutico no homem, tendo sido calculadas de conformidade com as especificações dos respectivos laboratórios, extrapolando-se a porcentagem de sua administração para o peso animal.

Sendo assim, obtivemos:

- . Bromelina - 1,150 mg/kg por dia;

- . Escina - 1,143 mg/kg por dia e
- . Papaína - 1,700 µg/kg por dia.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram distribuídos em 4 (quatro) grupos e respectivos sub-grupos, totalizando 53 (cinquenta e três) animais.

Grupo I

Cinco ratas prenhas, que não receberam nenhum tipo de medicamento, constituíram o grupo controle.

Sub-Grupo I

Cinco filhotes desenvolveram-se naturalmente, sob controle de peso semanal, até atingirem a maturidade óssea, quando então, foram sacrificados por inalação de éter sulfúrico sob campânula de vidro, e as cabeças removidas a fim de serem dissecadas.

Grupo II

Cinco ratas receberam, durante a prenhez, aplicações intraperitoniais de bromelina, em doses terapêuticas, diariamente.

Os filhotes que nasceram, foram divididos em 2 (dois) sub-grupos:

- . Sub-Grupo II.A - 4 (quatro) animais e
- . Sub-Grupo II.B - 4 (quatro) animais.

Sub-Grupo II.A

Os animais desse sub-grupo não receberam, nenhum medicamento. Cresceram até a maturidade õssea, sendo pesados semanalmente, após o que foram sacrificados pelo mesmo procedimento adotado no Grupo I.

Sub-Grupo II.B

Esses animais receberam, diariamente, o mesmo medicamento administrado à mãe - "Bromelina". A dosagem foi aumentada proporcionalmente à variação de peso semanal, até que os animais atingissem a maturidade, após o que foi utilizado o mesmo procedimento adotado no Grupo I.

Grupo III

Cinco ratas receberam, durante a prenhez, aplicações intraperitoniais de "Escina", em doses terapêuticas, diariamente.

Os filhotes que nasceram, foram divididos em 2 (dois) sub-grupos:

- . Sub-Grupo III.A - 5 (cinco) animais e
- . Sub-Grupo III.B - 5 (cinco) animais.

Sub-Grupo III.A

Esses animais não receberam nenhum medicamento. Eles foram pesados semanalmente e ao atingirem a maturidade õssea, foram sacrificados pelo mesmo procedimento adotado no Grupo I.

Sub-Grupo III.B

Esses animais receberam, diariamente, o mesmo medicamento administrado à mãe - "Escina". A dosagem foi aumentada proporcionalmente à variação de peso semanal, até que os animais atingissem a maturidade, após o que foi utilizado o mesmo procedimento adotado no Grupo I.

Grupo IV

Cinco ratas receberam, durante a prenhez, aplicações intraperitoniais de "Papaína", em doses terapêuticas diárias.

Os filhotes que nasceram, foram divididos em 2 (dois) sub-grupos:

- . Sub-Grupo IV.A - 5 (cinco) animais e
- . Sub-Grupo IV.B - 5 (cinco) animais.

Sub-Grupo IV.A

Esses animais não receberam nenhum medicamento. Eles foram pesados semanalmente e ao atingirem a maturidade óssea, foram sacrificados pelo mesmo procedimento adotado no Grupo I.

Sub-Grupo IV.B

Esses animais receberam, diariamente, o mesmo medicamento administrado à mãe - "Papaína". A dosagem foi aumentada proporcionalmente à variação de peso semanal, até que os animais atingissem a maturidade óssea, após o que foi utilizado o mesmo procedimento adotado no Grupo I.

3.2.2. TÉCNICA DE OBTENÇÃO DOS CRÂNIOS

Logo após o sacrifício dos animais, procedeu-se a remoção da cabeça, que foi dissecada utilizando-se material cirúrgico, com a finalidade de se remover completamente os tecidos moles.

Em seguida à dissecação, o crânio foi então levado a uma solução de H₂O₂, a 10%, até que atingisse uma coloração esbranquiçada, quando então foi levado ao sol para secagem.

3.2.3. TÉCNICA DE MENSURAÇÃO

A mensuração foi realizada com paquímetro "MAUB" polonês, de precisão em décimos de milímetro, sendo as medidas apresentadas em centímetros.

3.2.4. MEDIDAS EXECUTADAS E SEUS PONTOS DE REPARO

Os pontos de referência para as medidas efetuadas foram baseados naqueles sugeridos por FORD & HORN⁸ (1959) e IUCIF^{1,2} (1962), e modificados por RINO^{2,9} e col., em 1979 (figura 1).

A. Comprimento total do crânio - distância entre o ponto mediano do bordo nasal (ponto nasal anterior) e o ponto mais saliente do osso occipital;

B. Altura do crânio - distância entre o ponto bregma, na sutura coronal e sutura sagital, até o proces

so pterigoideo externo;

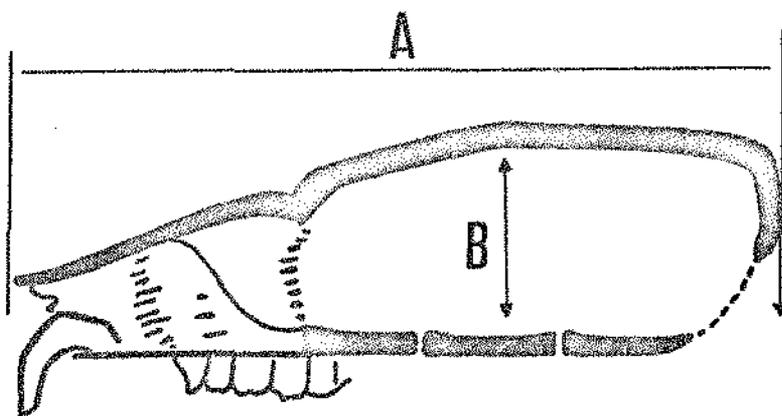
C. Comprimento da face - distância do proesfeno até o ponto nasal anterior;

D. Comprimento da base do crânio - distância entre o básio e o proesfeno;

E. Largura do crânio - distância dada pelo maior diâmetro transversal entre os meatos acústicos externos.

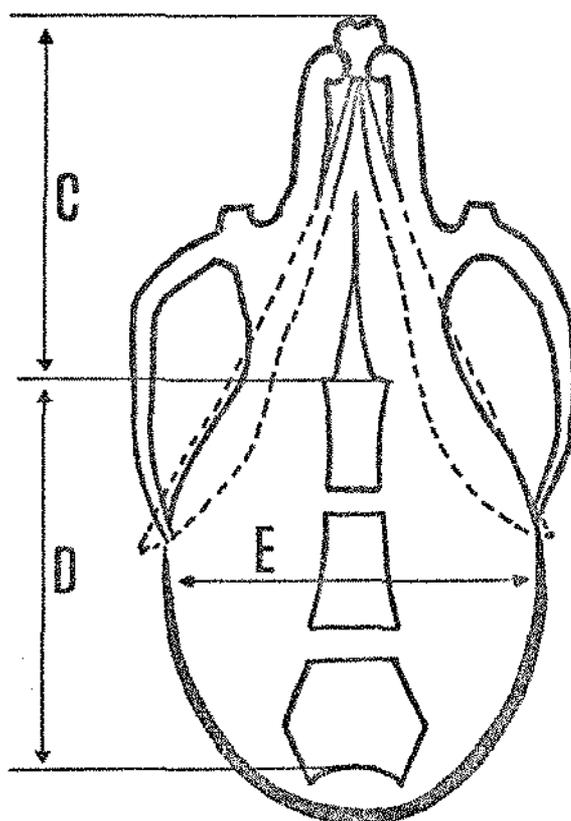
3.2.5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

No tratamento estatístico, foi utilizada uma "análise de variância" inteiramente ao acaso, teste F e teste t de Tukey.



A. comprimento total do crânio

B. altura do crânio



C. comprimento da face

D. comprimento da base do crânio

E. largura do crânio

Figura 1 - Pontos de reparos das medidas executadas.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

A tabela I e os gráficos de número 1 a 3 representam, respectivamente, os valores médios de peso e a curva de crescimento dos animais, que foram submetidos a controle semanal de peso desde o início do experimento até atingirem a maturidade óssea, identificados pela repetição do mesmo valor, durante 3 (três) semanas consecutivas.

Na tabela I, portanto, observamos os valores médios de peso de quatro animais, durante todo o seu desenvolvimento, do grupo I - controle - e dos sub-grupos II.A e II.B, submetidos à Bromelina, III.A e III.B, submetidos à Escina e IV.A e IV.B, submetidos à Papaína.

Tabela I - Valores médios de peso dos animais do grupo I - controle - e dos sub-grupos II.A, II.B, III.A, III.B, IV.A e IV.B, desde o desmame até a plenitude do crescimento somático (em gramas).

semanas grupos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Controle	41,2	55,8	80,3	111,2	136,2	138,5	161,0	173,4	180,0	190,4	195,4	199,8	201,8	210,8	216,6	215,8	219,4
Sub-g. II.A	42,6	55,3	78,6	99,8	124,5	138,0	149,0	159,0	167,7	177,6	182,0	186,2	191,5	193,5	198,0	197,5	202,2
Sub-g. II.B	58,9	74,7	98,9	125,5	145,3	152,3	164,5	178,2	188,7	197,5	205,1	208,5	211,5	213,7	215,3	216,0	220,0
Sub-g. III.A	60,9	78,0	110,7	133,2	158,3	174,0	196,2	209,0	229,5	264,6	275,2	282,0	287,4	298,6	306,4	304,8	295,8
Sub-g. III.B	52,6	67,2	82,6	102,8	120,0	134,1	144,5	153,8	162,4	176,3	181,2	186,6	188,2	192,9	196,3	193,8	198,0
Sub-g. IV.A	43,4	74,6	104,4	125,1	150,7	157,2	172,7	185,8	190,0	202,3	202,7	208,1	211,0	212,2	214,9	218,2	220,0
Sub-g. IV.B	45,4	75,1	104,1	124,0	145,4	159,1	174,7	186,9	197,0	208,1	213,2	217,4	221,8	224,0	236,0	236,6	252,4

Nos gráficos que se seguem, temos:

No gráfico 1, a comparação de crescimento en
tre o grupo controle e os sub-grupos II.A e II.B.

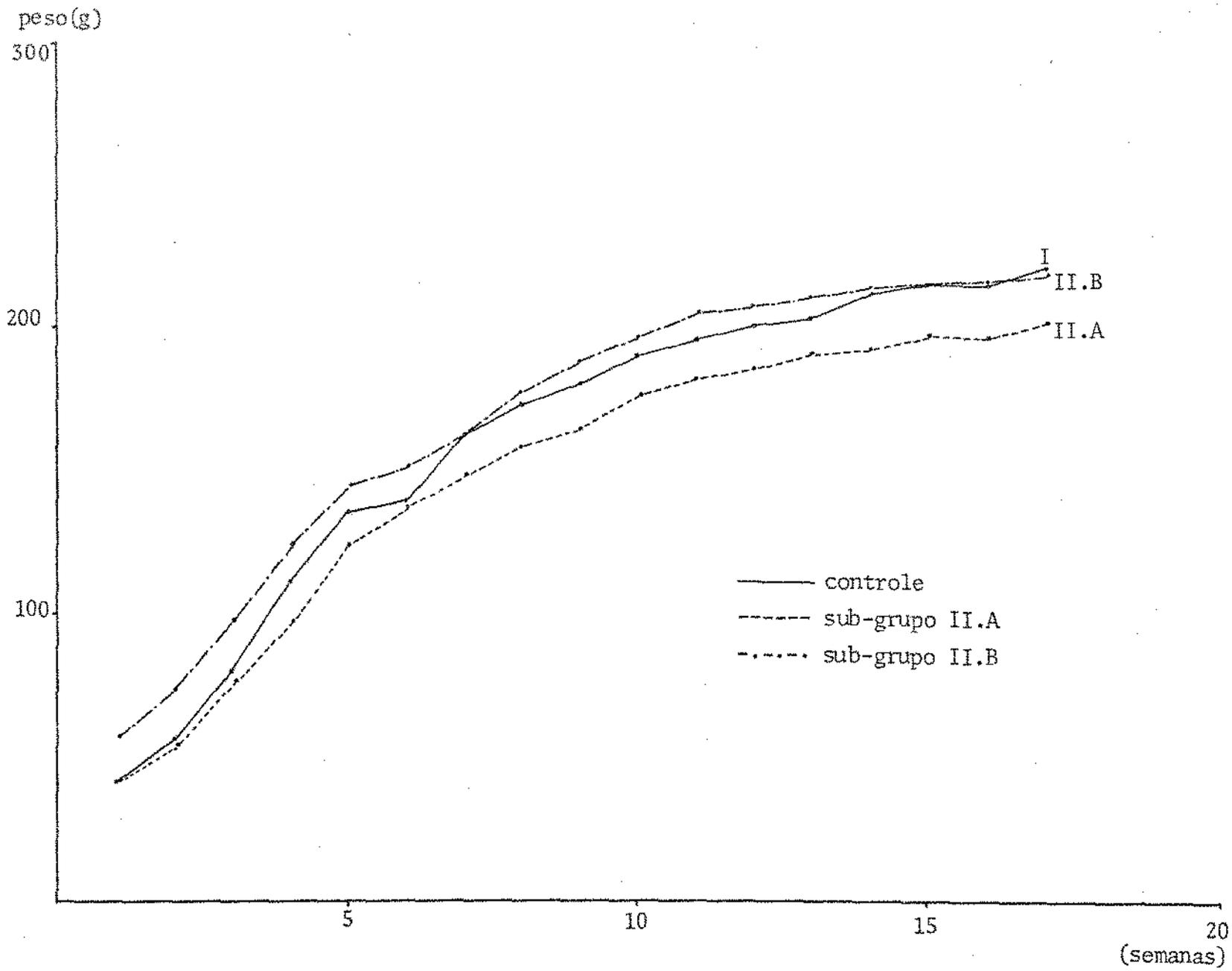


Gráfico 1 - Ganho médio de peso das ratas dos sub-grupos II.A e II.B, submetidas à ação da Bromelina, comparadas com o grupo I.

No gráfico 2, a curva de crescimento compara
tiva entre o grupo I - controle - e os sub-grupos III.A e
III.B.

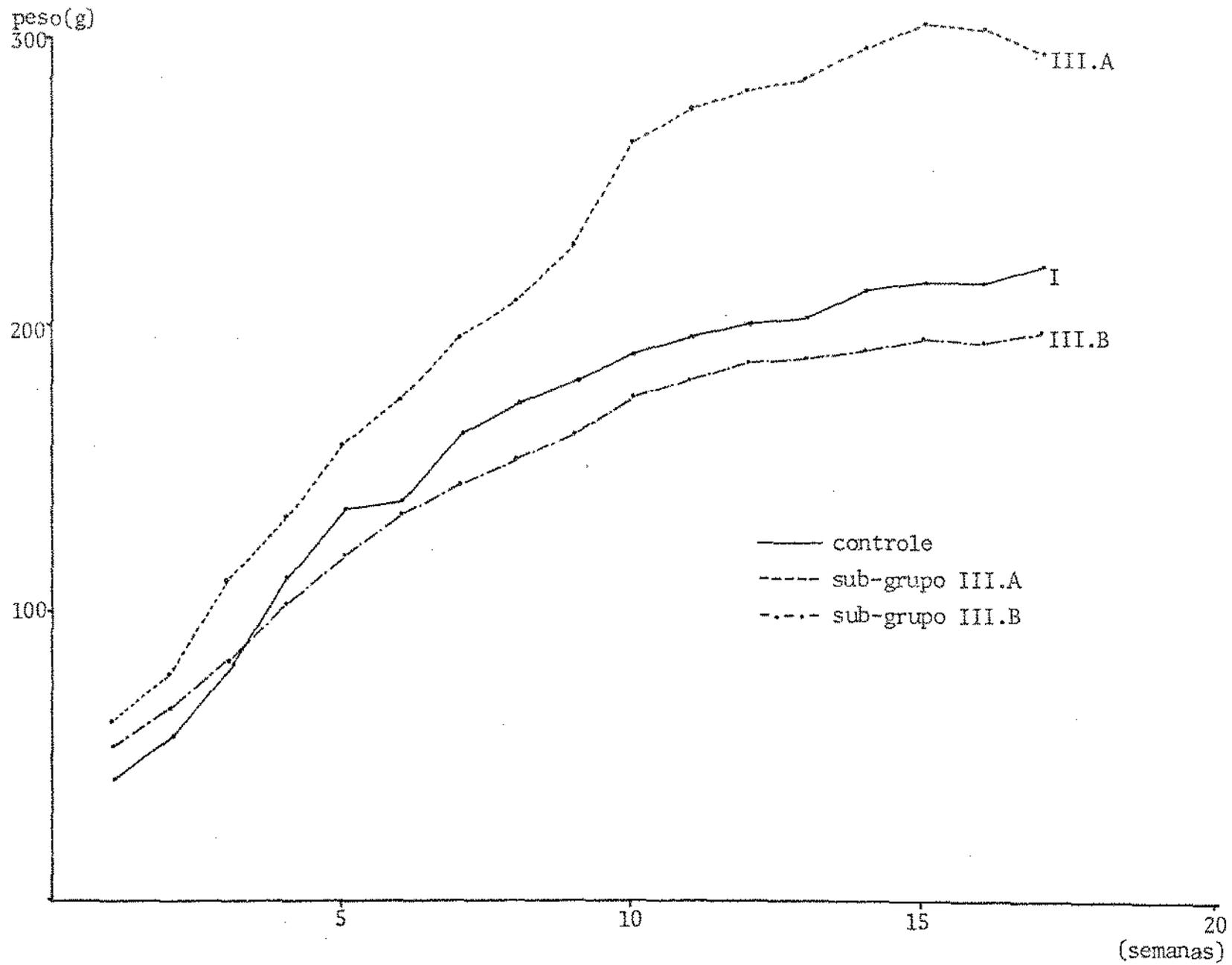


Gráfico 2 - Ganho médio de peso das ratas dos sub-grupos III.A e III.B, submetidas à ação da Escina, comparadas com o grupo I.

No gráfico 3, a curva de crescimento compara
tiva entre o grupo I - controle - e os sub-grupos IV.A e
IV.B.

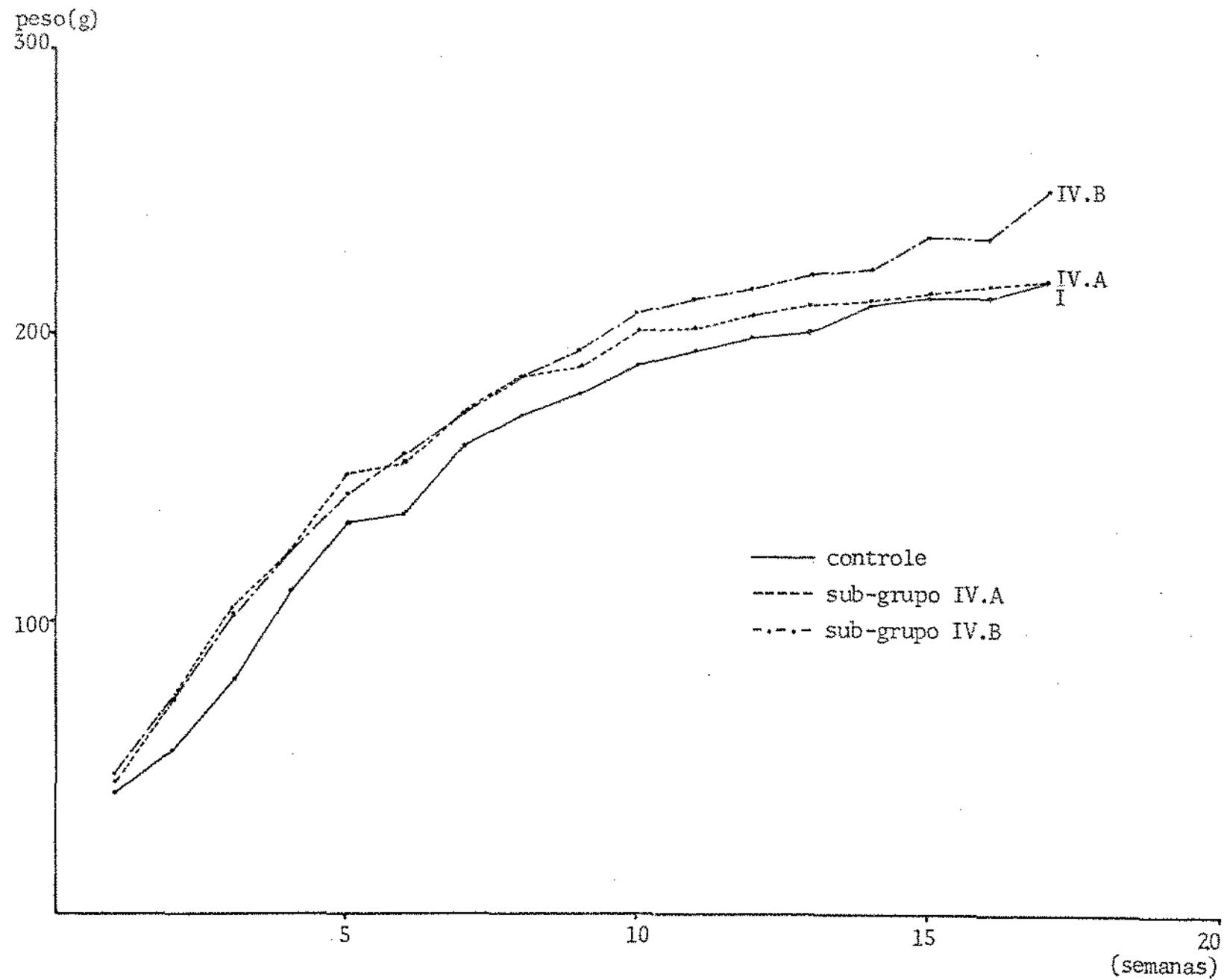


Gráfico 3 - Ganho médio de peso das ratas dos sub-grupos IV.A e IV.B, submetidas à ação da Papaína, comparadas com o grupo I.

Na sequência fotográfica, podemos observar, comparativamente, os diversos grupos em estudo.

Assim sendo, temos:

Na fotografia 1 - comparamos o grupo I (controle) com o sub-grupo II.A, que foram animais que só as mães tomaram Bromelina, durante a prenhez.

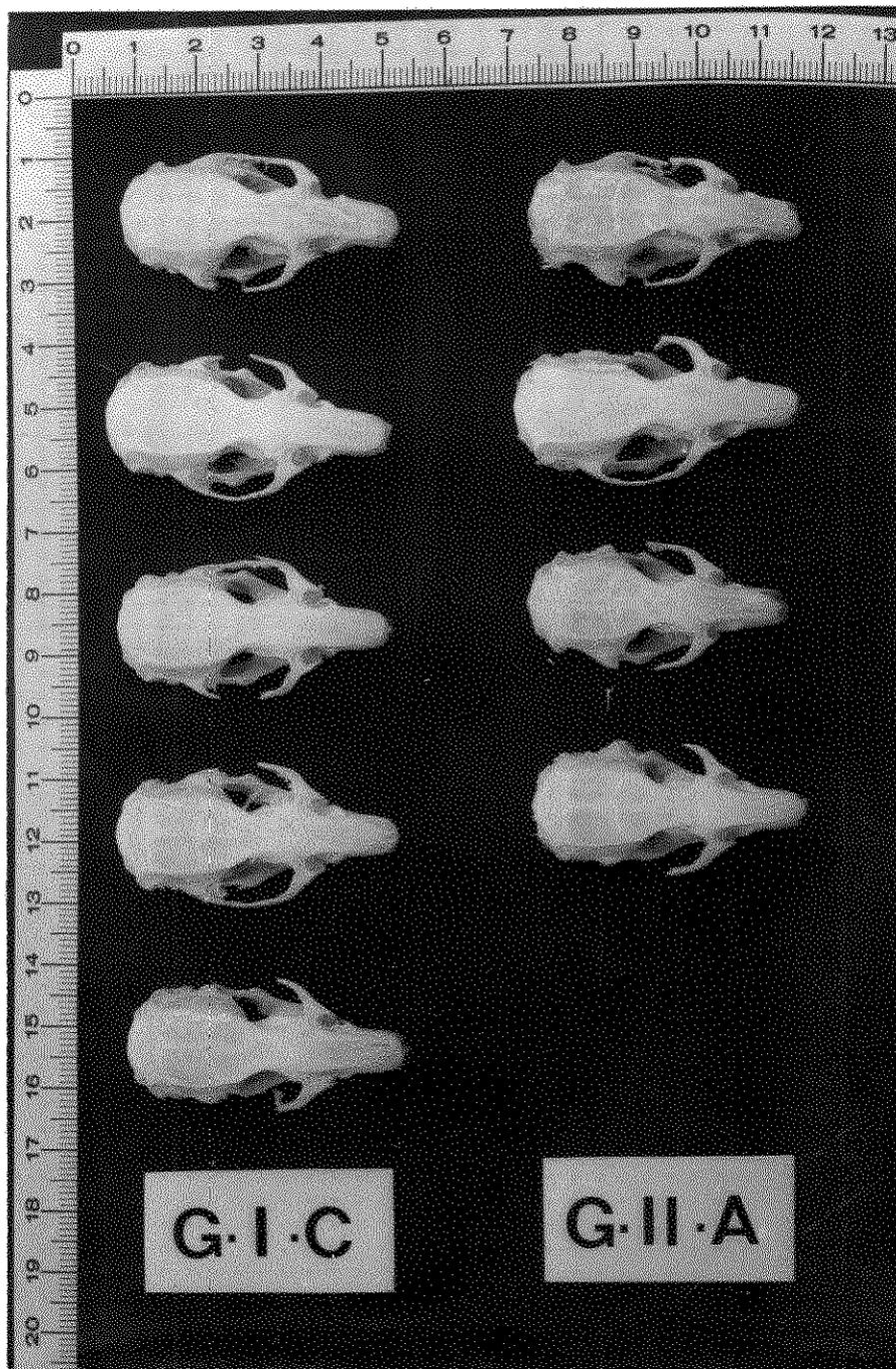
Na fotografia 2 - comparamos o grupo I (controle) com o sub-grupo II.B, que foram animais que as mães tomaram Bromelina durante a prenhez e os filhotes, durante o seu desenvolvimento.

Na fotografia 3 - comparamos o grupo I (controle) com o sub-grupo III.A, que foram animais que só as mães tomaram Escina durante a prenhez.

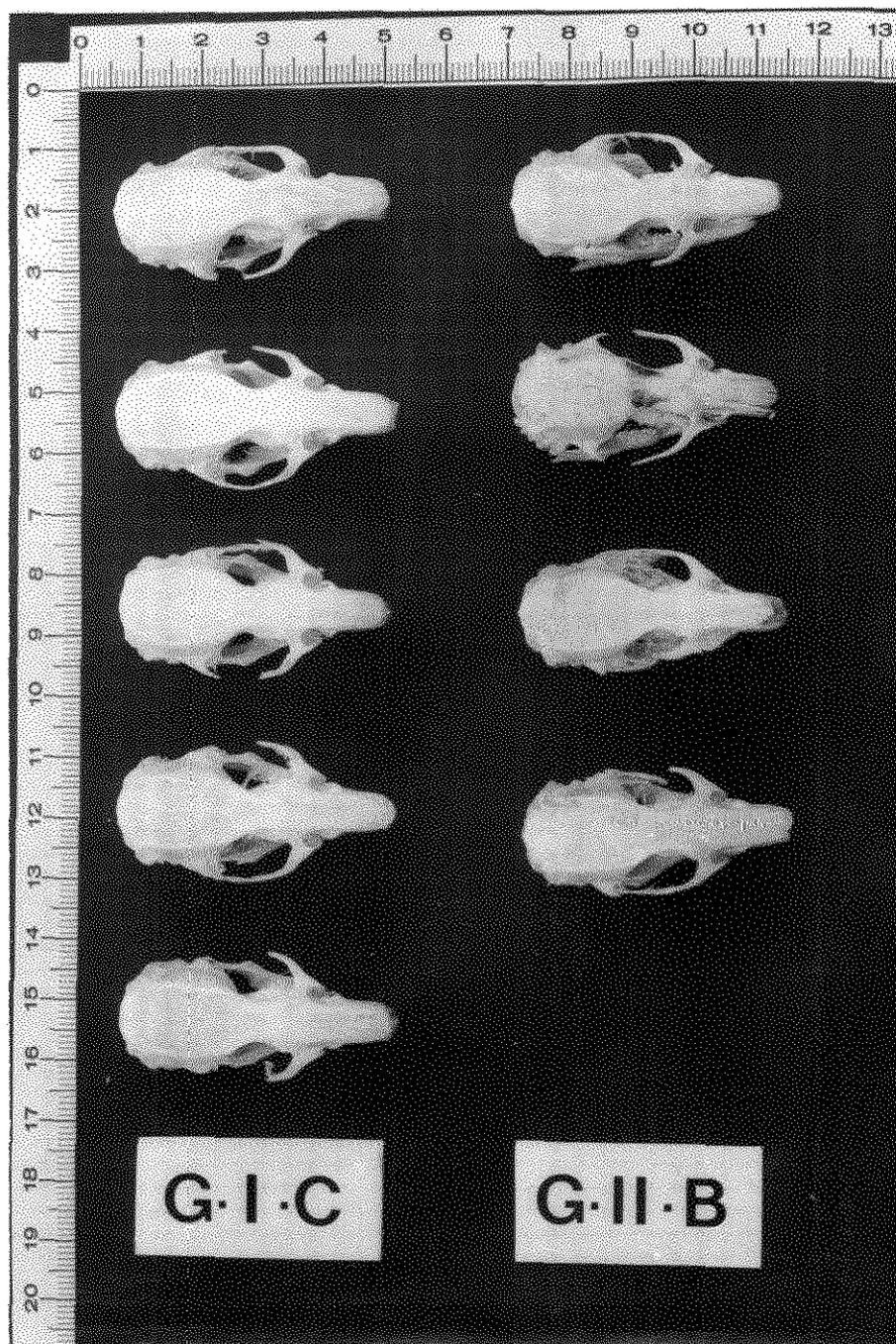
Na fotografia 4 - comparamos o grupo I (controle) com o sub-grupo III.B, que foram animais que as mães tomaram Escina durante a prenhez e os filhotes, durante o seu desenvolvimento.

Na fotografia 5 - comparamos o grupo I (controle) com o sub-grupo IV.A, que foram animais que só as mães tomaram Papaína durante a prenhez.

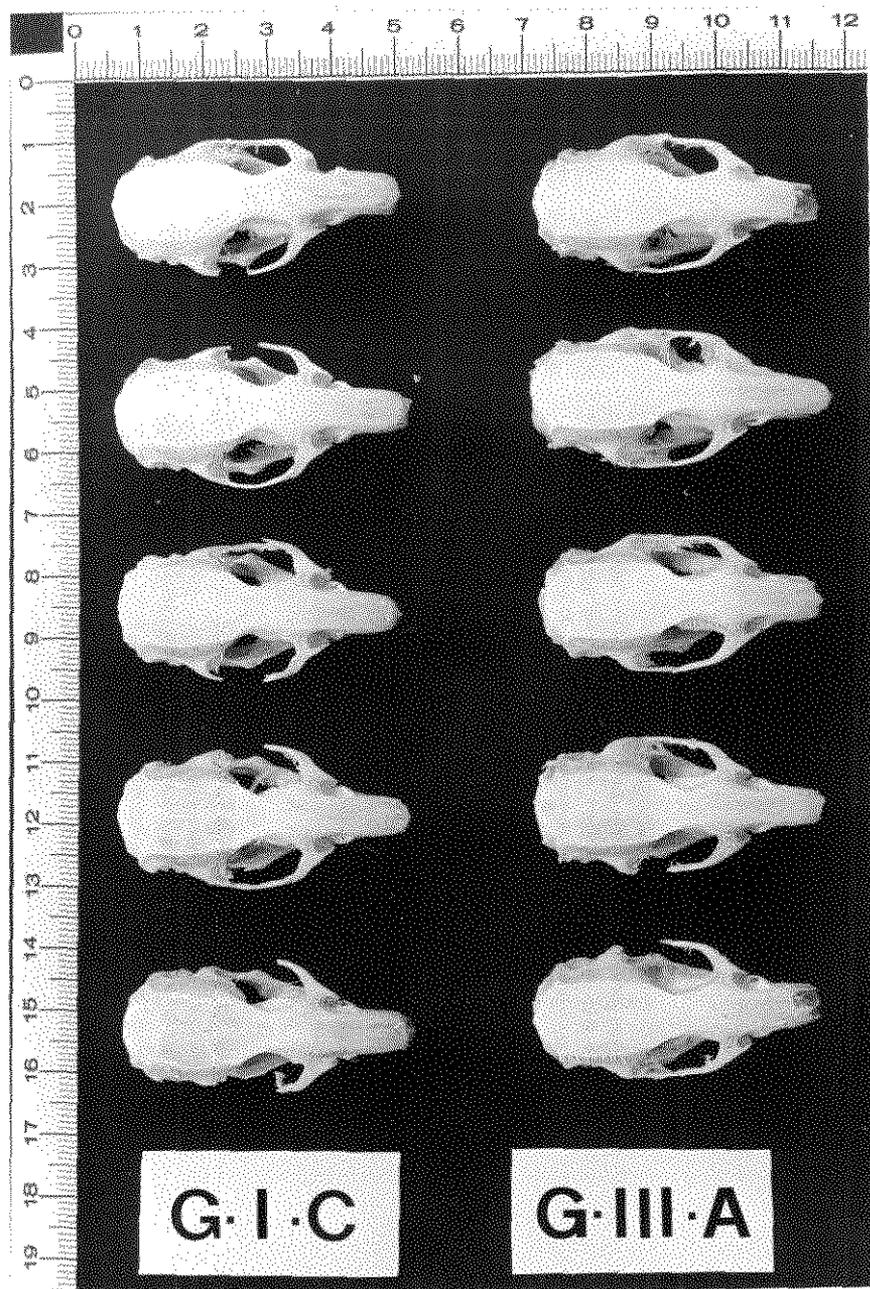
Na fotografia 6 - comparamos o grupo I (controle) com o sub-grupo IV.B, que foram animais que as mães tomaram Papaína durante a prenhez e os filhotes, durante o seu desenvolvimento.



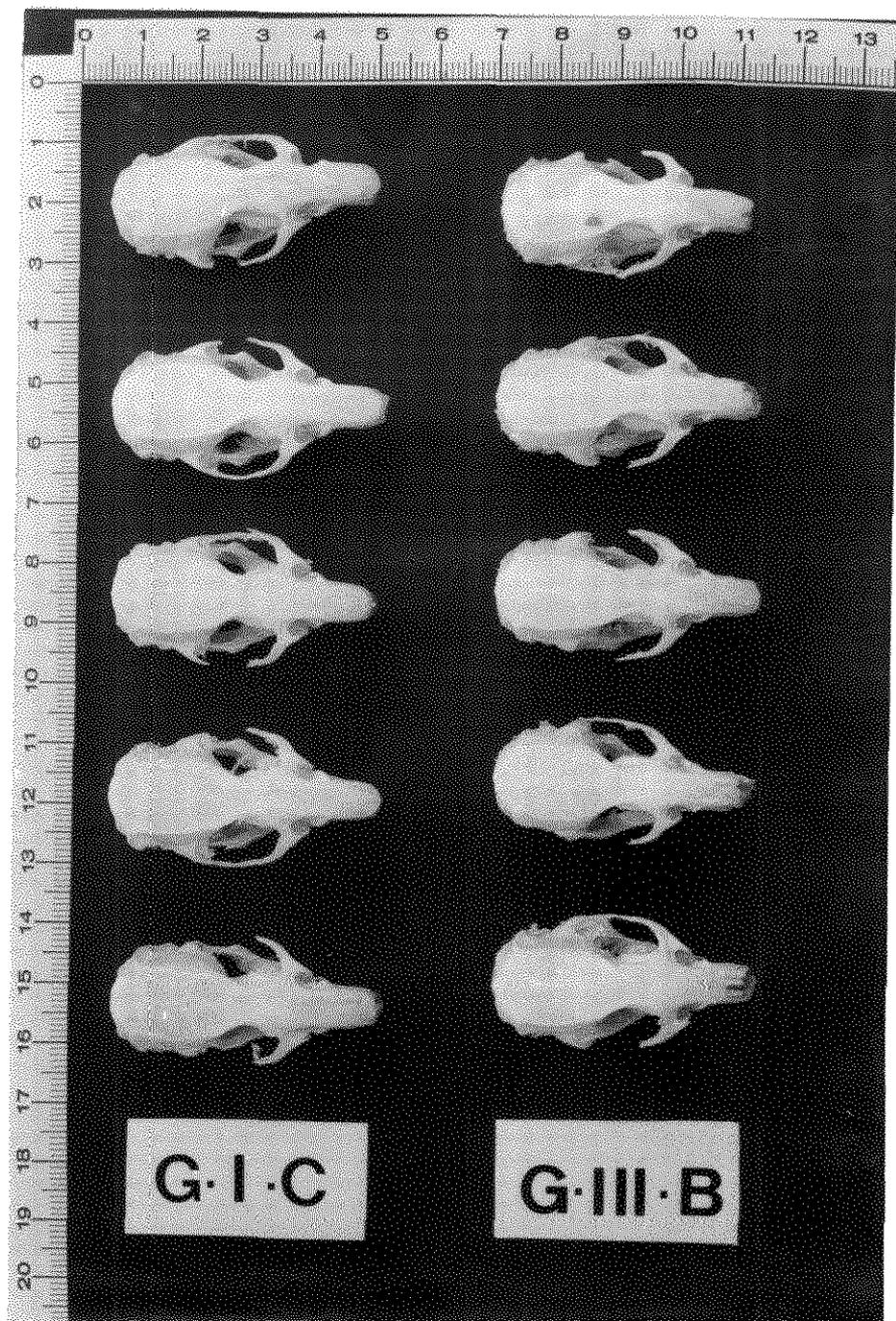
Fotografia 1 - Crânio de ratas do Grupo I - controle - e do Grupo II.A (animais que somente as mães receberam Bromelina).



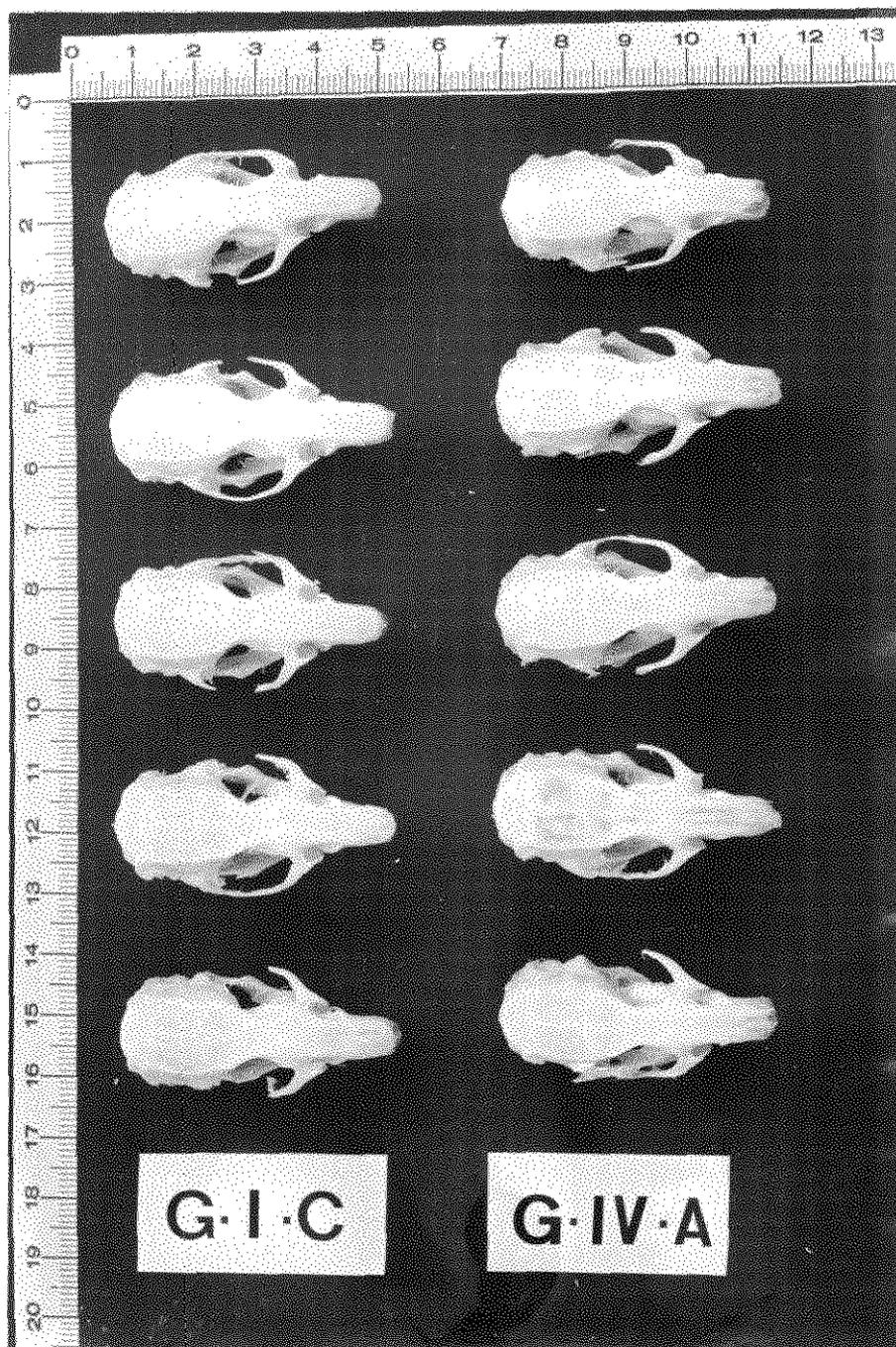
Fotografia 2 - Crânio de ratas do Grupo I - controle - e do Grupo II.B (animais que receberam Bromelina até a fase adulta).



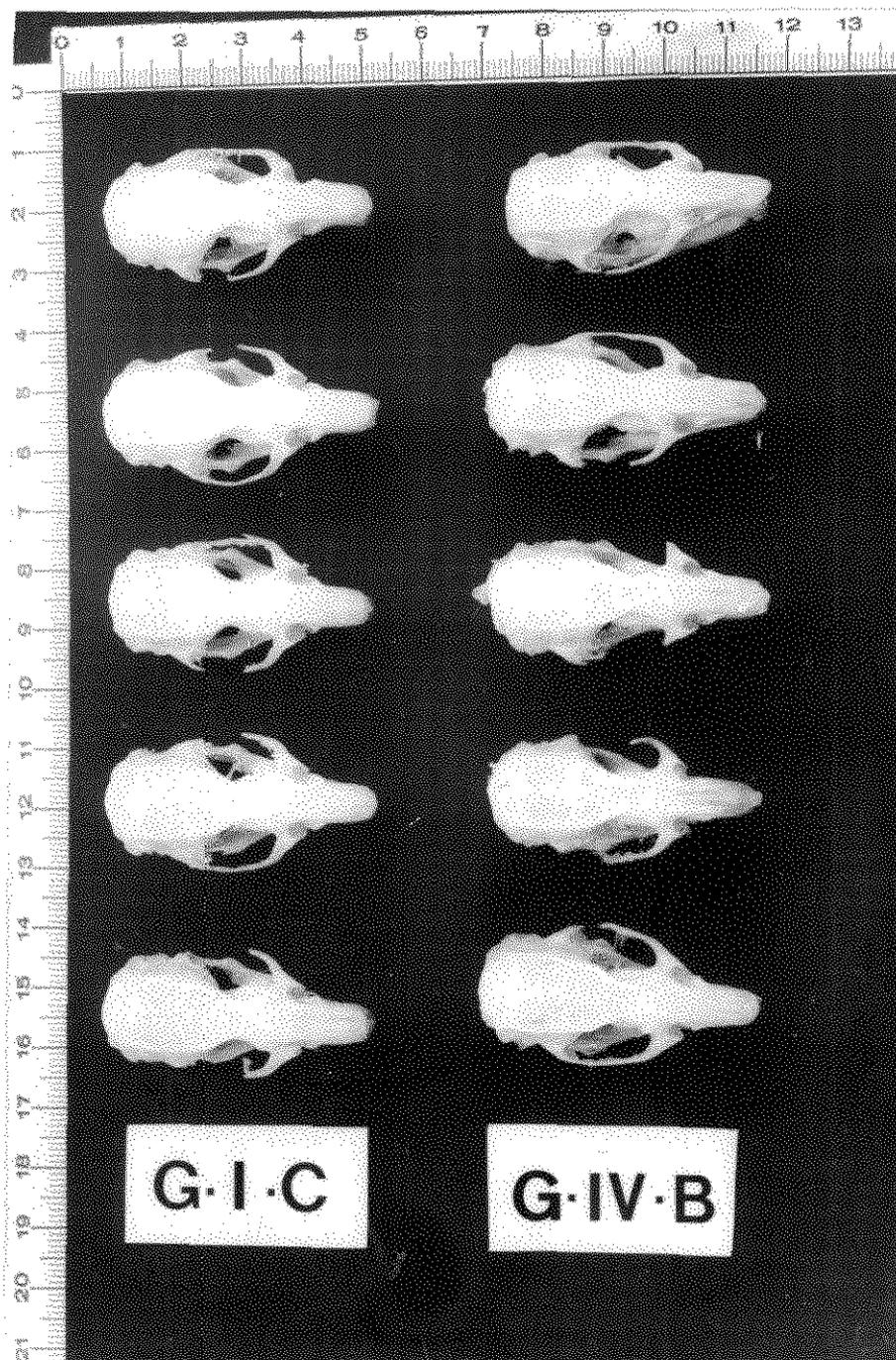
Fotografia 3 - Crânio de ratas do Grupo I - controle - e do grupo III.
A (animais que somente as mães receberam Escina).



Fotografia 4 - Crânio de ratas do Grupo I - controle - e do grupo III.
B (animais que receberam Escina até a fase adulta).



Fotografia 5 - Crânio de ratas do Grupo I - controle - e do Grupo IV.A
(animais que somente as mães receberam Papaína).



Fotografia 6 - Crânio de ratas do Grupo I - controle - e do Grupo IV.B (animais que receberam Papaína até a fase adulta).

Os valores médios das diversas medidas efetuadas nos crânios do grupo controle e dos sub-grupos em estudo, estão expressos na tabela II.

Tabela II - Valores médios em centímetros das medidas efetuadas em crânios.

Medidas \ Grupos	CONTROLE	BROMELINA II		ESCINA III		PAPAÍNA IV	
	IC	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
A-comp.tot.crânio	4,528	4,292	4,150	4,292	4,174	4,342	4,452
B- altura crânio	1,198	1,118	1,135	1,166	1,176	1,172	1,156
C- compr. face	2,538	2,393	2,450	2,398	2,322	2,582	2,554
D-comp.base crânio	1,866	1,660	1,580	1,694	1,662	1,668	1,748
E- largura crânio	1,664	1,558	1,550	1,628	1,638	1,612	1,650

Com base nesses resultados e utilizando-se cada medida em separado, foram feitas análises com a finalidade de:

1. Conseguir-se uma comparação entre as médias das medidas obtidas, usando-se o teste F, a fim de se verificar se existe diferenças significantes entre os grupos.

2. Comparar, através do teste t de Tukey, ao nível de 5%, as médias de tratamento com o grupo controle e entre si, isto é, grupos que continuaram tomando as drogas Bromelina, Escina e Papaína, com os grupos que são as mães tomaram (as drogas), durante o período de prenhez.

Apresentamos, a seguir, os dados referentes a cada uma das variáveis e suas respectivas análises estatísticas.

A. Comprimento Total do Crânio

Os dados referentes à variável: comprimento total do crânio, estão na tabela III.

Com base nesses dados, foi feita uma análise de variância, cujo resultado encontra-se na tabela IV. O valor de F tabelado é 2,47. Foi feito ainda o teste de Tukey. As médias e as diferenças mínimas significantes (d.m.s.) estão na tabela V.

Tabela III - Valores referentes à variável: comprimento total do crânio, expressos em centímetros.

CONTROLE	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
4,54	4,30	4,12	4,22	4,12	4,31	4,48
4,47	4,23	4,18	4,46	4,28	4,36	4,54
4,48	4,18	4,25	4,24	4,17	4,48	4,38
4,49	4,46	4,05	4,28	4,07	4,36	4,46
4,66	----	----	4,26	4,23	4,20	4,40

Tabela IV - Análise de variância referente aos dados da tabela III.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPOS	6	0,5343	0,08905	10,82017*
RESÍDUO	26	0,2139	0,00823	
TOTAL	32	0,7482		

* significativa a 5%

 $F_{6,26} = 2,47$

Tabela V - Média dos grupos e as diferenças mínimas significantes (d.m.s.)

CONTR.	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB	dms ¹		
							(4,4)	(4,5)	(5,5)
4,528	4,293	4,150	4,292	4,174	4,342	4,452	0,205	0,194	0,183

¹ Entre parênteses as repetições para as quais a diferença mínima sig nificante (d.m.s.) se aplica.

Para os casos em que não houve perda de par celas, usa-se na comparação entre os grupos de 5 (cinco) a animais, isto é, IIIA, IIIB, IVA, IVB e C, o valor 0,183 co mo diferença mínima significativa (d.m.s.).

Para comparar os grupos IIIA, IIIB, IVA, IVB e C, com os grupos IIA ou IIB, que possuem apenas 4 (quatro) animais em cada grupo, utilizou-se como diferença mínima significativa (d.m.s.) o valor 0,194.

Para comparar o grupo IIA com o grupo IIB, utilizou-se o valor 0,205 como diferença mínima significante (d.m.s.).

Com base no teste de Tukey, ao nível de significância de 5%, verifica-se que:

1. Em média, IVB e C são maiores que IIB.
2. Em média, IVB e C são maiores que IIIB.
3. Em média, C é maior que IIIA.
4. Em média, C é maior que IIA.
5. Em média, C é maior que IVA.

B. Altura do crânio

Os dados referentes à variável: altura do crâ-
nio, estão na tabela VI.

Com base nesses dados, foi feita uma análise de variância, cujo resultado encontra-se na tabela VII. O valor de F tabelado é 2,47. Foi feito ainda o teste de Tukey. As médias e as diferenças mínimas significantes (d.m.s.) estão na tabela VIII.

Tabela VI - Valores referentes à variável: altura do crânio, expressos em centímetros.

CONTROLE	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
1,17	1,14	1,12	1,14	1,20	1,20	1,16
1,24	1,12	1,13	1,19	1,17	1,22	1,17
1,18	1,07	1,12	1,15	1,20	1,14	1,14
1,23	1,14	1,17	1,17	1,15	1,18	1,16
1,17	----	----	1,18	1,16	1,12	1,15

Tabela VII - Análise de variância referente aos dados da tabela VI.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPOS	6	0,01906	0,00318	3,957*
RESÍDUO	26	0,02089	0,00080	
TOTAL	32	0,03995		

* significante a 5%

Tabela VIII - Média dos grupos e as diferenças mínimas significantes (d.m.s.)

CONTR.	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB	d.m.s. ¹		
							(4,4)	(4,5)	(5,5)
1,198	1,118	1,135	1,166	1,176	1,172	1,156	0,064	0,061	0,057

¹ Entre parênteses as repetições para as quais a diferença mínima sig nificante (d.m.s.) se aplica.

Para os casos em que não houve perda de par celas, na comparação entre os grupos IIIA, IIIB, IVA, IVB e C, usou-se o valor 0,057 como diferença mínima significante (d.m.s.).

Na comparação dos grupos IIIA, IIIB, IVA, IVB e C com os grupos IIA ou IIB, que possuem 4 (quatro) animais cada grupo, utilizou-se o valor 0,061 como diferença mínima significante.

E para se comparar o grupo IIA com o IIB, u- sou-se, como d.m.s., o valor 0,064.

Com base no teste t de Tukey, ao nível de significância de 5%, verifica-se que:

1. Em média, C é maior que IIA.
2. Em média, C é maior que IIB.

C. Comprimento da face

Os dados referentes à variável: comprimento da face, estão na tabela IX.

Com base nesses dados, foi feita uma análise de variância, cujo resultado encontra-se na tabela X. O valor de F tabelado é 2,47. Foi feito ainda o teste de Tukey. As médias e as diferenças mínimas significantes (d.m.s.) estão na tabela XI.

Tabela IX - Valores referentes à variável: comprimento da face, expressos em centímetros.

CONTROLE	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
2,69	2,28	2,40	2,43	2,33	2,60	2,57
2,38	2,49	2,55	2,40	2,38	2,62	2,60
2,56	2,34	2,50	2,44	2,40	2,64	2,58
2,65	2,46	2,35	2,30	2,27	2,58	2,50
2,41	----	----	2,42	2,23	2,47	2,52

Tabela X - Análise de variância referente aos dados da tabela IX.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPOS	6	0,28131	0,04689	6,4057*
RESÍDUO	26	0,19031	0,00732	
TOTAL	32	0,47162		

* significante a 5%

Tabela XI - Média dos grupos e as diferenças mínimas significantes (d.m.s.)

CONTR.	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB	d.m.s. ¹		
							(4,4)	(4,5)	(5,5)
2,538	2,393	2,450	2,398	2,322	2,582	2,554	0,193	0,183	0,173

¹ Entre parênteses, as repetições para as quais a diferença mínima sig nificante (d.m.s.) se aplica.

Para os casos em que não houve perda de par celas, usa-se na comparação entre os grupos IIIA, IIIB, IIA, IIB e C, o valor 0,173 como diferença mínima sig nificante (d.m.s.).

Na comparação dos grupos IIIA, IIIB, IVA, IVB e C, com os grupos IIA ou IIB, utilizou-se como d.m.s., o valor 0,183.

Para comparar o grupo IIA com o IIB, utili zou-se como d.m.s. o valor 0,193.

Com base no teste de Tukey, ao nível de sig nificância de 5%, verifica-se que:

1. Em média C, IVA e IVB são maiores que IIIB.
2. Em média, IVA é maior que IIA.
3. Em média, IVA é maior que IIIA.

D. Comprimento da base do crânio

Os dados referentes à variável: comprimento da base do crânio, estão na tabela XII.

Com base nesses dados, foi feita uma análise de variância, cujo resultado encontra-se na tabela XIII. O valor de F tabelado é 2,47.

Tabela XII - Valores referentes à variável: comprimento da base do crânio, expressos em centímetros.

CONTROLE	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
1,74	1,92	1,58	1,86	1,72	1,76	1,74
2,12	1,60	1,57	1,72	1,60	1,64	1,80
1,75	1,50	1,62	1,55	1,55	1,56	1,76
1,69	1,62	1,55	1,74	1,56	1,66	1,82
2,03	----	----	1,60	1,88	1,72	1,62

Tabela XIII - Análise de variância referente aos dados da tabela XII.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPOS	6	0,22574	0,03762	2,2313 N.S.
RESÍDUO	26	0,43848	0,01686	
TOTAL	32	0,66422		

N.S. - não significante a 5%

Com base na análise de variância, verifica-se que não há efeito significativo de grupo, ao nível de significância de 5%.

E. Largura do crânio

Os dados referentes à variável: largura do crânio, estão na tabela XIV.

Com base nesses dados, foi feita uma análise de variância, cujo resultado encontra-se na tabela XV. O valor de F tabelado é 2,47. Foi feito ainda o teste de Tukey. As médias e as diferenças mínimas significantes (d.m.s.) estão na tabela XVI.

Tabela XIV - Valores referentes à variável: largura do crânio, expressos em centímetros.

CONTROLE	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB
1,68	1,64	1,54	1,65	1,74	1,60	1,64
1,62	1,56	1,56	1,62	1,64	1,72	1,65
1,64	1,47	1,58	1,60	1,66	1,61	1,62
1,74	1,56	1,52	1,61	1,60	1,55	1,66
1,64	----	----	1,66	1,55	1,58	1,68

Tabela XV - Análise de variância referente aos dados da tabela 13.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
GRUPOS	6	0,05152	0,00859	3,329*
RESÍDUO	26	0,06703	0,00258	
TOTAL	32	0,11855		

* significativa a 5%

Tabela XVI- Média dos grupos e as diferenças mínimas significantes (d.m.s.)

CONTR.	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVB	d.m.s. ¹		
							(4,4)	(4,5)	(5,5)
1,664	1,558	1,550	1,628	1,638	1,612	1,650	0,115	0,109	0,102

¹ Entre parênteses, as repetições para as quais a diferença mínima sig nificante (d.m.s.) se aplica.

Para os casos em que não houve perda de par celas, usou-se na comparação entre os grupos IIIA, IIIB, IVA, IVB e C, o valor 0,102 como diferença mínima sig nificante (d.m.s.).

Para comparação dos grupos IIIA, IIIB, IVA, IVB e C, com os grupos IIA ou IIB, usou-se como a d.m.s. o valor 0,109.

Para comparar o grupo IIA com o IIB, utilizou-se 0,115 como d.m.s.

Com base no teste de Tukey, ao nível de significância de 5%, verifica-se que:

Em média, C é maior que IIB.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Através da revista da bibliografia, verificamos que realmente os anti-inflamatórios enzimáticos, de origem vegetal, produzem vários efeitos colaterais.

A nossa preocupação inicial prendia-se às observações obtidas de vários estudos de coelhos em crescimento, estudos em cães, ratos e cobaias (McCLUSKEY²² e col., 1958; ENGFELDT⁴ e cols., 1959), que comprovaram que a papaína provocava alterações na zona de crescimento epifisial em todas essas diferentes espécies de animais em crescimento.

MARTIN²⁰ e cols., em 1962, administraram bromelina por via oral e observaram que não havia alterações de peso significantes entre os animais tratados e os animais do grupo controle, resultados esses que podemos confirmar em nosso trabalho.

Nossas observações iniciam-se a partir do desmame dos animais, quando então começamos a pesagem dos mesmos.

Esses resultados estão expressos na tabela I e nos gráficos 1 a 3, que nos permitem comparar o crescimento dos diversos grupos em estudo com o grupo controle.

Verificamos, de uma maneira bastante evidente, uma diferença significativa do sub-grupo III.A, isto é, os animais que somente as mães tomaram Escina durante a prenhez, comparados com o grupo controle, são maiores.

Esse sub-grupo apresentou uma diferença de peso grande, não só em relação ao grupo controle como tam

bem em relação aos outros sub-grupos em estudo.

Na bibliografia consultada, não encontramos nada que pudesse nos responder o que possa ter ocorrido para obtermos esses resultados.

KVINNSLAND¹⁴, 1974, pode também observar que a papaína age em zonas de crescimento epifisial em coelhos, ratos e camundongos, tendo observado também ratos em crescimento, que quando submetidos a doses repetidas de papaína, essa droga age sobre a cartilagem, causando redução do crescimento crânio-facial; fato este, que constatamos (durante a biometria) em nossos experimentos.

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, uma série de considerações deve ser discutida.

Propusemo-nos trabalhar nas medidas craniométricas dos diversos grupos em estudo e verificamos, pelas análises estatísticas, várias diferenças significantes.

Assim, comparando-se os resultados de "Comprimento Total do Crânio" do grupo I - controle (animais que não tomaram nenhum medicamento) com os sub-grupos da Bromelina - II.A e II.B (filhotes de mães que tomaram medicamento durante a prenhez; filhotes que tomaram medicamento durante o desenvolvimento); com os sub-grupos da Escina - III.A e III.B (filhotes de mães que tomaram medicamento durante a prenhez; filhotes que tomaram medicamento durante o desenvolvimento) e com o sub-grupo da Papaína - IV.A (filhotes de mães que tomaram medicamento durante a prenhez), notamos que tiveram uma redução significativa em suas medidas. Verificamos, ainda, que o sub-grupo da Papaína - IV.B (filhotes que tomaram medicamento durante o desenvolvimento) é signi

ficantemente maior quando comparado com os sub-grupos da Bromelina - II.B - e Escina - III.B (filhotes que tomaram o medicamento durante o desenvolvimento).

Para as medidas de "Altura do Crânio", verificamos que estatisticamente só houve diminuição significativa quando comparados com o grupo I - controle - os sub-grupos da Bromelina - II.A e II.B.

Nas medidas de "Comprimento da Face", verificamos, pela análise estatística, que o grupo I - controle - mais os sub-grupos da Papaína - IV.A e IV.B (filhotes de mães que tomaram medicamento durante a prenhez e filhotes que tomaram medicamento durante o desenvolvimento) são significativamente maiores que os animais do sub-grupo da Escina - III.B (filhotes que tomaram medicamento durante o desenvolvimento). Para estas mesmas medidas, notamos que o sub-grupo da Bromelina - II.A (filhotes de mães que tomaram medicamento durante a prenhez) e os sub-grupos da Escina - III.A e III.B, são significativamente menores que o sub-grupo da Papaína IV.A (filhotes de mães que tomaram o medicamento durante a prenhez).

Para as medidas de "Largura do Crânio", verificamos que somente os animais do sub-grupo da Bromelina - II.B (tomaram o medicamento durante o desenvolvimento) apresentaram uma diferença significativamente menor quando comparados com o grupo I - controle.

Pudemos ainda constatar em nossos estudos comparativos entre os anti-inflamatórios de origem vegetal: Bromelina, Escina e Papaína, que o efeito da Bromelina na redução do desenvolvimento crânio-facial de ratos é ainda maior que o da própria Papaína.

Esses dados são demonstrados pelos parâmetros de "Comprimento Total do Crânio" (vide tabela V), Altura do Crânio" (tabela VIII) e "Largura do Crânio" (tabela XVI).

Pudemos notar, também, que para a medida de "Comprimento da Face" a Escina foi o medicamento que mais interferiu, produzindo uma redução no desenvolvimento normal da face dos animais.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, concluimos que:

1. Os animais que tomaram Bromelina e Escina, sub-grupos II.A e II.B; III.A e III.B, apresentaram uma redução significativa no "Comprimento Total do Crânio", comparados com o grupo controle, o mesmo acontecendo com o sub-grupo IV.A, em que somente as mães tomaram Papaína durante a prenhez.

2. Os animais do sub-grupo da Bromelina - II. A e II.B - apresentaram uma redução significativa na "Altra do Crânio", comparados com o grupo I - controle.

3. O sub-grupo III.B, que são os animais que receberam a Escina durante o período de desenvolvimento, teve uma redução significativa no "Comprimento da Face" se comparado com o grupo controle.

4. Nas medidas referentes à "Largura do Crânio", foi observada apenas uma diminuição no sub-grupo II.B, correspondente aos animais que tomaram Bromelina durante todo o desenvolvimento, também comparado com o grupo controle.

5. Nas medidas referentes ao "Comprimento da Base do Crânio", não foi encontrada nenhuma diferença sig nificante em todos os animais em experiência.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. BURKE, D.E.; LEWIS, S.D.; SHAFER, J.A. A two-step procedure for purification of papain from extract of papaya latex. Archs Biochem. Biophys., 164(1): 30-6, 1974.
2. CACI, F. & GLUCK, G.M. Double-blind study of prednisolone and papase as inhibitors of complications after oral surgery. J. Am. dent. Ass., 93(2): 325-7, 1976.
3. DEMARTIN, F. Sperimentazione clinica controllata della specialità medicinale tetranase in ortopedia e traumatologia. Minerva med., Roma, 63: 3233-44, 1972.
4. ENGFELDT, B.; HULTH, A.; WESTERBORN, O. Effect of papain on bone. Archs Path., 68: 600-14, 1959.
5. EVERSMAAN, R. O tratamento medicamentoso do edema após intervenções cirúrgicas no maxilar. Dt.zahnarztl.Z., 24: 238, 1960.
6. FARRIS, E.J. & GRIFFITH JR., J.Q., eds. The rat in laboratory investigation. 2.ed. New York, Hafner Publ., 1971. cap. 3, p. 23.
7. FATINI, G.; GALLENZA, G.C.; VELTRONI, A. Un nuovo enzima vegetale (bromelina) nella terapia chirurgica. Minerva chir., 65: 814, 1967.

8. FORD, E.H.R. & HORN, G. Some problems in the evaluation of differential growth in the rat's skull. Growth, Menasha, Wis., 23: 191-204, 1959. Apud RINO, W., op. cit. ref.
9. GIACCA, S. Sperimentazione clinica dell'Ananase. Mi-nerva med., Roma, 55(98): 3925-28, 1964.
10. GLICK, B. & BRUBACKER, L.J. An examination of the rate assay to determine the active-site normality of pa pain. Analyt. Biochem., 73: 419-32, 1976.
11. GOLDENBERG, N. & PRESTES, N.M. Tratamento preventivo dos edemas em cirurgia bucomaxilofacial com o emprego da escina (estudo experimental). In: CONGRESSO BRASI LEIRO DE CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA BUCO-MAXILO-FACIAL, 5., São Paulo, 1979. |Separata|
12. IUCIF, S. Crescimento alométrico do crânio e do arco dentário durante a vida pós-natal de alguns roedores. Ribeirão Preto, 1962. |Tese (Doutoramento) - Facul dade de Medicina|. Apud RINO, W., op. cit. ref.
13. KOBERG, W. Profilaxia e terapia dos edemas pós-operatõ rios da face e do maxilar. Zentbl. Chir., 93(10) : 381-7, 1968.
14. KVINNSLAND, S. Craniofacial skeletal changes in young rats induced by prolonged papain administration. Growth, 38(3): 381-7, 1974.

15. LOCKS, H. The influence of horse chestnut extracts on venous tone. Arzneimittel-Forsch., 24(9): 1347-50, 1974.
16. LUCAS, J. Experiência com a escina em terapia interna. Medsche Welt, Stuttg., 16: 913-6, 1963. |Tradução|
17. MAGLIULO, E.; CARCÓ, F.P.; GORINI, S.; BARIGAZZI, G.M. In vivo and in vitro researches on the antiphlogistic action of the escine. Archs Sci. méd., 125 (6): 207-18, 1968.
18. MAMMARELLA, E. Osservazioni cliniche sulla possibilità di impiego in oculistica della bromelina. Minerva med., Roma, 55(98): 3935, 1964.
19. MARTIN, G.J.; BRENDDEL, R.; BEILER, J.M. Absorption of enzymes from the intestinal tract. Am J. Pharm., 129: 194-7, 1957.
20. _____; EHRENREICH, M.A.; ASBELL, N. Bromelain. Pine apple protease with anti-edema-activity. Expl Med. Surg., 20: 227-47, 1962.
21. MERKOW, L. & LÁLICH, J.J. Skeletal changes in suckling rats, induced by prolonged papain administration. J. exp. Med., 108: 371-83, 1958.
22. McCLUSKEY, R.T. & THOMAZ, L. The removal of cartilage matrix, in vivo, by papain. Identification of crystal

- line papain protease as the cause of phenomenon. J. exp. Med., 108: 371-83, 1958.
23. MILLER, O. Analgésicos e anti-inflamatórios não esteróides. Revisão e atualização. Odontólogo Mod., 5 (5): 5-13, 1978.
24. MILNE, J. & BRAND, S. Occupational asthma after inhalation of dust of the proteolytic enzyme. Papain. Br. J. ind. Med., 34(4): 302-7, 1975.
25. NEUBAUER, R.A. A plant protease for potentiation and possible replacement of antibiotics. Expl Med. Surg., 19: 143-60, 1961.
26. PEREGALLI, P.F. Impiego orale della bromelina (Ananase) nel trattamento degli edemi ed ematomi nella pratica ortopedico-traumatologica. Minerva med., Roma, 55(98): 3932-5, 1964.
27. PRESTES, N.M. Vantagens do uso da escina no tratamento e profiloxina dos edemas em cirurgia oral menor. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ODONTOLOGIA, 14. Porto Alegre, 1979. |Separata|
28. RENZINI, G. & VARENGO, M. Assorbimento della tetraciclina in associazione con bromelina per via orale. Minerva med., Roma, 63: 3213-8, 1972.
29. RINO, W. & TEIXEIRA, D. Pubertal neurocranium growth

- in thymectomized rats. Acta anat., 105: 242-9, 1979.
30. SABBAGH, A. Efeitos colaterais das drogas anti-inflamatórias sobre os valores hematológicos e os fatores da autohemostasia. Ars Curandi Odont., 5(7): 4-14, 1978.
31. SELTZER, A.P. Riduzione dell'edema posto-operatorio e dell'equimosi per mezzo di un enzima orale (bromelina). Minerva med., Roma, 55(98): 3958-60, 1964.
32. SIERING, H. The permeability of cell membranes for ions under the influence of aescin. Arzneimittel-Forsch., 12: 376-8, 1962.
33. SINCLAIR ARAUZ, J.F. Estudo comparativo dos anti-inflamatórios de origem vegetal (bromelina, escina e papaína) em cirurgia. Piracicaba, 1982. |Tese (Mestrado) - Fac. Odontologia - Unicamp|
34. SIRTORI, C.M. Sperimentazione clinica della specialità Ananase -. Minerva med., Roma, 55(98): 3228-32, 1964.
35. 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. A. Rev. Respir. Dis., 11(3): 254-62, 1974.
36. THOREK, P. & PANDIT, J.K. Proteolytic enzymes in wound

- repair. Immediate post-operative effects. Appl. Ther.,
6: 323-5, 1974.
37. VESPA, N. Superimentazione clinica controllata del tetranase in campo odontoiatrico. Minerva med., Roma, 62: 3219-25, 1966.
38. VIEIRA, S. Introdução à bioestatística. Rio de Janeiro, Ed. Campus, 1981. 294p. cap. 14, p. 223-45.
39. VOGEL, G.; MAREK, M.L., OETNER, R. Studies on the mechanisms of therapeutic and toxic action of the horse chestnut saponin escin. Arzneimittel-Forsch., 20(5): 669-703, 1970.