

*No 1000  
100000*

MARIA ESPERANÇA RABELO JUNQUEIRA  
FARMACÊUTICA

ESTUDO HISTOLÓGICO DOS EFEITOS DE DROGAS  
ANTIINFLAMATÓRIAS (Betametasona, Papaina e Piroxicam)  
SOBRE A EVOLUÇÃO DO TECIDO DE GRANULAÇÃO  
INDUZIDO EM RATOS.

*Piroxicam*

*100000  
100000*

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

PIRACICABA  
1983

UNICAMP  
BIBLIOTECA

Ao meu pai, "in memoriam", que muito  
contribuiu para meu engrandecimento  
espiritual e profissional

À minha mãe, guia de meus  
passos através da vida, as  
horas desta conquista.

À "maior" força existente dentro do meu ser  
e ao meu melhor amigo, que esteve do meu  
lado nos momentos mais difíceis: "DEUS".

... ofereço este trabalho.

... À professora Dra. Maria de Lourdes G. da Gama,  
pela orientação segura, ampla, amiga e  
científica, que muito contribuiu  
para este trabalho.

Pelos atos de humanidade e  
compreensão minha eterna gratidão.

... Ao Prof. Dr. Mário Roberto Vizioli,  
cuja orientação persistente e efetiva  
neste trabalho, muito contribuiu  
para minha formação científica.

Meu respeito, agradecimento  
e grande amizade.

... Ao Prof. Dr. Samir Tufic Arbex,  
Coordenador Geral dos Cursos de Pós-Graduação  
da Faculdade de Odontologia de Piracicaba,  
pelas oportunidades oferecidas e pela  
solidariedade demonstrada desde o início  
atê o término de nossa convivência.

Minha inesquecível  
gratidão.

... Ao Prof. Dr. Eduardo Dias de Andrade,  
pelo apoio, orientação e incentivo  
na elaboração deste trabalho.

Meu respeito, agradecimento e  
minha eterna amizade.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. José Aristodemo Pinotti, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas, pela atenção e incentivo dispensado àqueles que se dedicam ao ensino e à pesquisa.

- Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Neder, Digníssimo Coordenador Geral da UNICAMP, pelo muito que tem feito em prol do ensino e da pesquisa em nossa Faculdade.

- Ao Prof. Dr. Luiz Valdrighi, Ilustre Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo estímulo ao contínuo aperfeiçoamento científico deste e de outros trabalhos.

- Ao Prof. Dr. Alcides Guimarães, Mestre e amigo, pelos ensinamentos dos primeiros passos dentro do meu Curso de Mestrado.

- Ao Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury, pelas orientações prestadas com precisão e eficiência.

- Aos queridos professores da Área de Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo apoio, amizade e dedicação constante durante o transcorrer deste trabalho.

- Ao Exmo. Diretor da Faculdade de Odontologia - Farmácia e Enfermagem de Alfenas, Dr. Vínio Barbosa Tamburini, pelo apoio moral e profissional que me fizeram chegar ao fim desta jornada.

- Aos colegas da Faculdade O.F.E. de Alfenas, Dr. Paulo Roberto Agostini, Olavo Bilac Castilho e Dr. Maciro Pereira pelo apoio dado para minha formação científica através da CAPES.

- À amiga Maria Conceição Barbosa Elias, DD. Professora na Fundação Universitária de Alfenas, responsável pelos meus primeiros passos dentro da carreira docente universitária.

- À amiga Dra. Vitória Lara Senn pelo estímulo e apoio no término desta jornada.

- À jornalista, Martha Rabelo Mariano, tia e amiga que esteve do meu lado nos bons e maus momentos desta jornada.

- Aos colegas do Curso de Pós-Graduação, pela compreensão e amizade, nos bons e nos momentos difíceis.

- À secretária e amiga do Curso de Pós-Graduação, Sueli Duarte de Oliveira Soliani, pela precisão em seus trabalhos profissionais.

- Ao Sr. Adário Cangiani, pelo capricho na elaboração fotográfica e montagem de meu trabalho didático-científico.

- Ao Sr. Antonio Kerches de Campos, pelo auxílio na elaboração, montagem e confecção do meu trabalho histórico.

- À Bibliotecária Ivany do Carmo Guidolim Gerola, pelo auxílio na correção da bibliografia.

- Ao Sr. Moisés José Maria da Silva, Técnico de Laboratório na Área de Farmacologia, pelos cuidados para com os animais utilizados nesta pesquisa.

- Ao Jovem Carlos Alberto Aparecido Feliciano, Técnico de Laboratório, pelo auxílio e dedicação nos trabalhos de datilografia.

- A todos aqueles que direta ou indiretamente ajudaram a realizar este trabalho.

## S U M Á R I O

página

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. PROPOSIÇÃO .....	28
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	29
3.1. Seleção de animais .....	29
3.2. Material usado .....	29
3.3. Implantação das esponjas .....	30
3.4. Distribuição dos grupos experimentais .....	31
3.5. Sacrifício dos animais .....	32
3.6. Coloração com hematoxilina-eosina .....	32
4. RESULTADOS .....	34
5. DISCUSSÃO .....	47
6. CONCLUSÃO .....	54
RESUMO .....	55
RÉSUMÉ .....	57
SUMMARY .....	59
BIBLIOGRAFIA .....	61

## 1. INTRODUÇÃO

Podemos considerar a inflamação como um processo homeostático de defesa do organismo, sendo de mecanismo complexo, pois toda vez que o organismo é agredido por um agente qualquer, determinante de uma lesão celular, desencadeia-se uma sequência de eventos tais como:

- I - Trauma
- II - Lesão tecidual
- III - Presença de mediadores inflamatórios
- IV - Sintomas e sinais inflamatórios

Esta série de eventos tem como finalidade o restabelecimento da normalidade da área atingida.

O caráter fundamental da resposta inflamatória é quase sempre o mesmo, e independe do agente lesivo ou do local de sua ocorrência, consistindo em uma série de adaptações teciduais que envolvem principalmente os vasos sanguíneos, os componentes líquidos e celulares do sangue e o tecido conjuntivo. Portanto, a sequência de eventos que se estabelece diante de uma agressão tecidual depende muito mais da intensidade do estímulo inicial que da natureza do agente agressor (VIZIOLI & BOZZO, 1976).

A inflamação é uma reação que se inicia no momento da agressão e só termina com a reparação da área da le-

são; por isso é necessário que se tenha em mente que a inflamação não é um estado, mas sim um processo dinâmico de grande importância biológica.

A reparação tecidual, seja por regeneração, seja por cicatrização, deve constituir o estágio final de uma inflamação que atingiu sua finalidade biológica, ou seja restabelecer a normalidade da estrutura atingida (VIZIOLI & BOZZO, 1976).

De uma maneira geral, o processo de reparo pode ser dividido em duas grandes fases, que são a regeneração e a cicatrização.

A regeneração compreende o processo no qual o tecido lesado é resposto por células da mesma origem daquelas que se perderam.

Fica claro que a regeneração restitui à área lesada a completa normalidade, tanto morfológica quanto funcional; seria portanto ideal que todo o processo de cura se efetuasse pela regeneração. Infelizmente, não é isso o que ocorre na grande maioria das vezes. Realmente, a forma mais comum de reparação se processa através da substituição do tecido perdido por tecido diferente do original; é a *CICATRIZAÇÃO*. O tecido de reposição é constituído de tecido conjuntivo-fibroso.

Para que a cicatrização se efetue, são necessárias a eliminação do agente agressor, e a ativa manutenção do potencial de regeneração das células, o que exige irrigação e nutrição suficientes. Como a cicatrização por tecido fibroso

é constituída por tecido mais simples e mais primitivo do que os tecidos que ela substitui, essa cicatrização implica na perda permanente da função fisiológica da região comprometida.

Portanto, é importante saber para o presente estudo que a reparação inicia-se com a proliferação de fibroblastos, e a multiplicação de pequenos vasos sanguíneos, através de mitoses de células endoteliais. A proliferação celular penetra no exsúdo que é reabsorvido, produzindo uma massa avermelhada altamente vascularizada, denominada *tecido de granulção*. A formação deste tecido dentro do mecanismo de reparação de uma lesão é, sem dúvida, o evento mais importante.

MONTENEGRO & FRANCO (1978), determinaram dois tipos de agentes capazes de produzir reações granulomatosas :

1. Agentes particulares, inertes, que sendo insolúveis, não podem ser destruídos pelas enzimas das células inflamatórias. Estes granulomas são conhecidos como granulomas de corpo estranho; neles, os macrófagos que participaram da reação permanecem por longo tempo, e são por isso considerados como granulomas de "turnover baixo". Como exemplo deste tipo de granulomas, pode-se citar os granulomas provocados por fio de sutura não absorvível, talco, graveto, fragmentos de metal e outros corpos estranhos.

2. O outro tipo de reação granulomatosa é causado por substâncias ou agentes de pequeno poder agressivo, pouco solúveis e de difícil destruição ou remoção. Neste caso, a lesão é dinâmica; os macrófagos chegam, transformam-se em células epitelióides e acabam morrendo, sendo necessária

uma contínua chegada de novos macrófagos para que a lesão se mantenha. São chamados granulomas de "turnover alto".

Os granulomas de turnover alto são causados por por agentes de capacidade antigênica, isto é, por macrófagos, eosinófilos, linfócitos e plasmócitos. Como exemplo desse tipo de granulomas, tem-se aqueles causados pelo bacilo de Koch, pelos fungos e pelo treponema da sífilis.

Através do tecido de granulação induzido artificialmente em animais de laboratório, tem-se feito pesquisas referentes a gênese e processos que levam a cura ao animal.

A síntese do colágeno como seu posterior desenvolvimento tem sido bastante estudado no referido tecido.

São inúmeras as pesquisas realizadas objetivando o estudo da morfologia do colágeno, sua cronologia de síntese e maturação, bem como aspectos bioquímicos e fisiológicos dos componentes estruturados que, direta ou indiretamente, participam da formação do tecido de granulação (MADEEN & PEACOCK Jr, 1968; ROSS, 1968; Mc MINN & PRITCHARD, 1969; VIZIOLI, BOZZO & VALDRIGHI, 1972; VIZIOLI, 1973; BAZIN, PELLETIER & DELAUNAY, 1973; COHEN, LEWIS & RESNIK, 1975; VIZIOLI, 1975; DELAUNAY & BAZIN, 1975; ENGLER & JAYLE, 1976; BAZIN, LE LOUS & DELAUNAY, 1976; VIZIOLI, BLUMEN & EL GUINDY, 1976; IM, FRESHWATER & HOOPES, 1976).

Segundo estes autores, a síntese de fibras no processo de reparação começa por volta do 4º dia pós-injúria, atingindo o ponto máximo de desenvolvimento entre 15º a 20º dias, decaindo progressivamente após este tempo.

Os passos iniciais na formação de colágeno ocorrem, intracelularmente, nos ribossomos do retículo endoplasmático rugoso dos fibroblastos secretores. O material aí produzido é então transferido para as vesículas do aparelho de Golgi, ou então diretamente para o espaço extracelular. Moléculas de protocolágeno (precursores do colágeno) são lançadas pelas células para o exterior, onde se tornam visíveis pela polimerização que ocorre, ao que tudo indica, do lado externo da membrana celular, mas bem junto a ela. As moléculas de protocolágeno extracelulares tornam-se então agregadas tanto lateral quanto longitudinalmente, e formam fibrilas de colágeno, que por sua vez, unem-se em fibras, que podem ser visualizadas ao microscópio óptico (ANDRADE, 1980).

A substância fundamental, formada principalmente por um mucopolissacarídeo ácido (ou glicosaminoglicana), o ácido hialurônico, é indispensável à agregação do colágeno para formar fibras e feixes, agindo como uma substância "cimentante" que une as fibrilas entre si. Por esta razão, é lógico que de nada adiantaria a formação de fibras colágenas se não houvesse o "cimento" que as agregam.

Os M.P.A. (mucopolissacarídeos ácidos) estão presentes no tecido de granulação desde as primeiras horas e, aumentam bastante a fase de proliferação dos fibroblastos que os produzem. De acordo com BENTLEY (1967) e planamente confirmado por VIZIOLI (1975), o conteúdo de M.P.A. livre no tecido, ou seja, mucopolissacarídeos ácidos não ligados ao colágeno, é bastante grande até os 15 dias após o início do processo, depois do que, esta quantidade começa a decrescer. Is

so significa que a síntese dessa substância é bastante ativa durante 15 dias, após o que, decresce e os M.P.A. disponíveis no tecido se ligam totalmente às fibras, agregando os feixes de colágeno e produzindo a maturação final do tecido.

Também merece ser citado o papel que alguns enzimas desempenham na formação do tecido de granulação. Durante muito tempo, foi constatado que a fosfatase alcalina estava presente no tecido em não-formação, e acreditava-se que ela devia exercer algum papel na formação do colágeno. Hoje, parece que essa opinião mudou consideravelmente. Existe realmente grande atividade da fosfatase alcalina no tecido de granulação, que atinge o máximo após 15 dias de envolvimento do tecido, caindo bruscamente após esse período. Isso demonstra que a fosfatase alcalina está intimamente associada ao processo de agregação do colágeno, processo esse realizado, como se viu, por meio dos M.P.A. A fosfatase alcalina, ao que se acredita, age na formação das cadeias de carboidratos necessários ao processo.

Outro enzima importante é a adenosina-trifosfa se (ATP ase), que aparece principalmente nas paredes dos capilares e intracelularmente, aumentando sua atividade até os 15 dias, caindo bruscamente após esse tempo. Essa atividade está ligada às necessidades energéticas do tecido, que são maiores durante o período de maior crescimento tecidual.

Também a 5-nucleotidase aumenta sua atividade no tecido de granulação durante os primeiros 15 dias de evolução, devido à aceleração da síntese dos ácidos nucleicos, e conseqüentemente aumento do giro dos nucleotídeos.

Após os 15 dias de desenvolvimento, o tecido de granulação torna-se paulatinamente mais maduro, com a diminuição do número de células fibrogenéticas e de capilares, já que as necessidades de nutrição do tecido começam a diminuir. O tecido torna-se então mais fibroso e sua quantidade total começa, aparentemente, a diminuir, o que resulta num processo de "encolhimento" do tecido, provocando uma gradual retração da área. Isso seria consequência de uma atividade colagenolítica, ou seja, de reabsorção do material fibroso produzido em excesso. Após 3 semanas, a reabsorção supera a síntese, e o tecido começa a "encolher". O encolhimento cessa após 5 semanas, e 45 dias após, o local da ferida é quase imperceptível, a não ser pelo padrão diferente do tecido fibroso da área, que forma a cicatriz (VIZIOLI & BOZZO, 1976).

Intervêm também na cronologia de síntese a maturação do colágeno, através de mecanismos diversos, as drogas antiinflamatórias, as quais constituem objetivo fundamental de nosso trabalho.

Estas drogas, também denominadas antiflogísticas, são frequentemente consideradas de suma importância no tratamento principalmente das doenças reumáticas.

Desde épocas bem remotas, o homem teve sua curiosidade despertada para aqueles fenômenos clínicos que acompanham as reações inflamatórias.

Papiros egípcios faziam referências, ao pus, bem como descreviam alguns aspectos de abscessos e de fístulas.

CELSUS (30 a.C.) introduziu os clássicos sinais cardeais da inflamação, dor, calor, rubor e tumor, aos quais, segundo ainda SPECTOR (1968), GALENO (129-201 d.C.) acrescentou a perda funcional.

São inúmeros os autores que estudaram a resposta inflamatória, abordando o tema como um todo ou, pretendendo avaliar aspectos específicos, quer das alterações morfológicas tissulares, quer da bioquímica por autacóides, quer da interferência enzimológica ou, ainda, do uso de drogas redutoras da intensidade da resposta inflamatória.

Evidentemente, no decorrer de todos esses anos de contínuo aprendizado, os fenômenos que ocorrem na inflamação foram abordados e analisados por uma metodologia variável, coerente e em concordância com a própria evolução tecnológica desenvolvida pela humanidade.

Com o advento da microscopia óptica, foram elaboradas, sobretudo, pesquisas no setor da fisiopatologia tecidual, esclarecendo-se, assim, alguns dos principais aspectos que caracterizam morfologicamente a inflamação.

De outro lado, a tecnologia no setor químico, permitiu às indústrias farmacêuticas sintetizarem drogas as quais mostraram efeitos farmacológicos redutores das manifestações clínicas da inflamação, enriquecendo, desta forma, o arsenal de medicamentos chamados antiinflamatórios.

Neste setor, a contínua demanda do clínico no sentido da obtenção de novas drogas antiinflamatórias mais ativas e menos iatrogênicas, motivou as pesquisas no campo da bio

química, de substâncias auto-elaboradas, com ação presente sobre os fenômenos inflamatórios desencadeados, visando, portanto, à obtenção de drogas redutoras da atividade farmacodinâmica daqueles autacóides.

Em realidade, especialmente devido à inexistência, durante longo tempo, de modelos biológicos de inflamação adequados aquelas estudos e à presença da maioria destas substâncias autacóides em formas inativas, os fenômenos bioquímicos, que ocorrem na inflamação, não puderam ser adequadamente avaliados em conjunto. Tal fato, ainda hoje, pode ser apreciado quando se revê a bibliografia sobre o assunto e se verificam as discrepâncias entre as opiniões dos vários autores.

Provavelmente, como decorrência desta deficiência, a grande maioria das drogas antiinflamatórias foi avaliada frente à sua principal resposta terapêutica, tendo sido enquadradas estas drogas como analgésicas e antipiréticas, desconsiderando-se que levaram a tais respostas por serem, fundamentalmente, ativas em alguns autacóides presentes aos processos inflamatórios.

Frente aos aspectos descritos, poderíamos conceituar uma droga antiinflamatória como sendo aquela que tenha a propriedade de bloquear, em graus diferentes de intensidade, as reações bioquímicas que ocorrem nos tecidos inflamados ou, ainda, que permita a obtenção, localmente, de melhores condições para mais rápida involução das alterações morfológicas tissulares, reduntantes da própria inflamação.

A maioria dos autores enquadra as drogas anti-

inflamatórias em três grupos principais:

A - Não esteróides e não enzimáticas, como os salicilatos, a indometacina, a butazona, a benzidamina e os anti-histamínicos;

B - Esteróides: corresponde aos hormônios corticais da supra-renal, ao ACTH e aos vários produtos sintéticos análogos;

C - Enzimas, como a hialuronidase, a tripsina, a quimotripsina, a estreptoquinase-estreptodornase, a bromelina, a papaina, etc.

Pretendemos, em comentários subsequentes, apresentar vários aspectos referentes às drogas antiinflamatórias citadas.

Neste trabalho pretendemos fazer o estudo destas novas substâncias que estão recentemente sendo sintetizadas e cuja atividade se exerce com provável maior eficácia e com menor número de efeitos colaterais do que as anteriormente usadas.

No presente trabalho, pretendemos fazer um estudo considerando três classes de antiinflamatórios mais recentemente descobertos, isto é, os de origem enzimática (papaina), os não enzimáticas e não esteróides (piroxicam) e finalmente os esteróides (betametasona). Resta observar que, além da resposta apresentada pelo processo inflamatório a estas substâncias, focalizaremos também a maior ou menor eficácia destas substâncias frente ao processo proliferativo.

a. *Antiinflamatórios Enzimáticos*

As enzimas proteolíticas, em especial nestes últimos anos, têm recebido por parte de vários autores uma consideração especial quanto à sua aplicabilidade terapêutica, numa série de situações clínicas que requeiram o combate à inflamação.

Segundo SHERRY (1960), seu uso tem sido indicado em quatro áreas distintas: para as desordens gastrintestinais, para a lise de coleções proteicas, como antiinflamatórios, e como coadjuvantes na terapêutica de doenças tromboembólicas.

No setor da Odontologia, grande número de pesquisadores tem se preocupado em verificar o uso das enzimas proteolíticas, mormente avaliando clinicamente sua atividade farmacodinâmica como antiinflamatório.

Para VIEILLEFOSSE (1968), as indicações do uso das enzimas proteolíticas em Odontologia prendem-se a aspectos da terapêutica da gangrena pulpar, do capeamento pulpar, da cárie dental, do edema, das moléstias periodontais e das estomatites.

PANZONI (1964), em uma exaustiva revisão da bibliografia, acentuava que o consenso de vários autores firmava, como propriedades principais das enzimas, a sua ação antiflogística por mecanismo sistêmico, isto é, ativando a reatividade orgânica; a sua ação lítica da necrose; ação anti-edema; sua ação anticoagulante e sua ação na fluidificação das exsudações plasmáticas.

As reações inflamatórias promovem toda uma série de alterações morfológicas, nos tecidos onde se implantam. As exsudações plasmáticas, originadas do maior afluxo sanguíneo regional, bem como do aumento da permeabilidade endotelial determinado por autacóides específicos, formam uma rede de fibrina circunscrite, que delimita e restringe, localmente, os danos tissulares ocasionados pelo traumatismo.

As enzimas proteolíticas, usadas como redutoras do edema, teriam, como o afirmava PANZONI (1964), uma ação na demolição deste retículo fibrinoso, promovendo mais rápida normalização das sequelas inflamatórias, em especial do edema e da microcirculação regional.

Frente a estes aspectos parece-nos lógico afirmar que o uso destas drogas de ação fibrinolítica só tenha mais adequada indicação em cirurgia bucal, quando passadas as primeiras 48 horas do trauma desenvolvido, nas chamadas reações inflamatórias primárias.

Em consequência deste raciocínio, em especial pelo fato da impossibilidade de se afirmar "a priori" não ter havido contaminação dos tecidos inflamados, poderíamos romper, prematuramente, a barreira de fibrina defensiva local, que se tenha estabelecido, facilitando, portanto, uma disseminação sistêmica dos microrganismos aí presentes, levando a quadros clínicos de bacteremia e de septicemia.

Acreditamos que o uso das enzimas proteolíticas como redutoras de edema pós-cirúrgico, em Odontologia, deva ser sempre acompanhado do uso de drogas quimioterápicas e/

ou antibióticas que permitam impedir agressões sistêmicas oriundas de disseminações de processos sépticos locais.

a. *Papaína:*

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

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

A papaína é considerada uma proteína simples básica.

As preparações comerciais da papaína tem três formas de enzima (GLICK, 1976).

- 1 - Enzima ativa;
- 2 - Enzima inativa, ativável;
- 3 - Enzima inativa não ativável.

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

THOREK 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.

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

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

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

MILNE e col. (1976), verificaram que a papaína causa reações asmáticas agudas e enfisemas pulmonares quando inalada.

KVINNSLAND, (1974), comprovou que em ratos em crescimento, submetidos a doses repetidas da 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.

*b. Antiinflamatórios não esteróides e não enzimáticos*

*b<sub>1</sub> - Píroxicam (WISEMAN, 1980)*

"É um agente antiinflamatório de nova estrutura, quimicamente diverso dos derivados do ácido carboxílico do

tipo da indometacina, do ibuprofen e do naproxen. Mostra-se eficaz, com uma potência quase igual a da indometacina em diferentes casos de inflamação, dor e hiperperexia em várias espécies de animais. O piroxicam não exerce sua ação antiinflamatória mediante o estímulo das supra-renais".

É um inibidor da biossintetase da prostaglandina. Isto não acarreta efeitos farmacológicos sobre o sistema cardiovascular ou nervoso, sendo tal substância bem tolerada pelos animais de experimentação durante os estudos pré-clínicos de controle de segurança. O piroxicam se distingue ainda mais dos outros agentes não-hormonais por uma série de propriedades farmacológicas notáveis. Sua meia-vida plasmática é longa (45 horas no homem) e, por isto, doses únicas diárias e reduzidas (10 - 40 mg) possibilitam a manutenção de concentrações terapêuticas durante 24 horas. Por esse motivo é o agente antiinflamatório não-hormonal que menor dose exige, no ser humano. Ademais, a administração concomitante de aspirina ou de antiácidos não afeta a farmacocinética plasmática do piroxicam.

O piroxicam é o 1,1-dióxido de 4-hidroxi-2-metil-N-(2-piridil)-2H-1,2-benzotiazina.

O piroxicam é intrinsecamente ativo como agente antiinflamatório e não depende do estímulo das supra-renais para produzir seus efeitos. Esta atividade intrínseca é mais claramente demonstrada nas pesquisas antiedema realizadas em ratos adrenalectomizados, nos quais o piroxicam é tão ativo quanto nos ratos íntegros. Ademais, o exame histopatológico dos animais normais e dos ratos portadores de artrite

adjuvante que recebem tratamento com o piroxicam por longos períodos não apresenta nenhum dos sinais de estímulo supra-renal crônico. O piroxicam afeta nitidamente a migração das células para o ponto da inflamação, como pode ser demonstrado pelo método da sinovite canina induzida por uratos. O piroxicam acarreta uma inibição da agregação plaquetária induzida pelo colágeno, dependente da concentração da droga, a qual por si só pode evitar a liberação posterior de mediadores inflamatórios. Este fenômeno foi estudado *in vitro* em plaquetas humanas (mínima concentração eficaz de piroxicam  $10^{-6}$  M) e *in vivo* em cães, nos quais a inibição da agregação plaquetária induzida pelo colágeno é observada uma hora após a administração da droga e persiste pelo menos durante 72 horas.

O piroxicam não inibe a atividade espasmogênica da histamina, da serotonina, da acetilcolina ou da prostaglandina  $E_2$  em preparações de tecidos isolados. Não obstante, tal como outros antiinflamatórios não-hormonais, o piroxicam inibe o sistema enzimático da prostaglandina-biossíntese, o qual é encontrado em muitos tecidos. Verificou-se que a potência do piroxicam varia na dependência do tecido em que a enzima está localizada. Exemplificando, nas preparações de vesícula seminal bovina, a atividade inibidora da prostaglandina-biossíntetase que se pode atribuir ao piroxicam é apenas uma ordem de grandeza maior do que da aspirina, enquanto em uma linguagem celular de granulócitos secretores de prostaglandina, o piroxicam é da mesma ordem de potência da indometacina. É possível, portanto, que existam aspectos singulares na inibição da prostaglandina-biossíntetase pelo piroxicam, os quais constituem tema de estudos intensivos no momen-

to. Não é improvável que o fundamento de muitas atividades antiinflamatórias do piroxicam seja sua capacidade de inibir a produção de prostaglandina.

O piroxicam não mostrou qualquer atividade cardiovascular notável em animais de experimentação. A administração endovenosa de doses cumulativas de até 15 mg não afeta significativamente a pressão arterial nem a frequência cardíaca, nem modifica as respostas pressoras às catecolaminas exógenas ou endógenas. Após doses intraperitoneais maciças, os camundongos exibem sintomas de depressão branda do sistema nervoso central. Entretanto, o piroxicam não modifica o comportamento estereotípico do camundongo após o tratamento com d-anfetamina, pentilenetetrazol, eletrochoque, oxotremorina ou tetrabenazina, levando à conclusão de que o piroxicam não possui atividade significativa sobre o sistema nervoso central.

#### *c. Antiinflamatórios corticosteróides*

O mecanismo de ação antiinflamatória dos corticosteróides tipo betametasona, tem merecido a atenção de vários autores, que tem procurado esclarecer os aspectos intrínsecos interferenciais sobre o fenômeno da inflamação. Tal preocupação, sem dúvida, é fundamental no fato do alto relevo apresentado pelos corticosteróides, no arsenal farmacológico que tem sido usado na terapêutica de grande número de doenças, em sua maioria com fundamentos em observações clínicas dos seus resultados.

HAILMAN (1952) já emitia sua opinião quando

afirmava que os esteróides corticais das supra-renais atuavam na redução da resposta inflamatória, por uma ação direta sobre o próprio local inflamado.

MILLER (1978), na sua revisão sob os analgésicos e antiinflamatórios esteróides, ressalta que os mesmos são praticamente inócuos em doses baixas, mas que, em doses elevadas podem ocasionar efeitos tóxicos, tais como: náusea, vômitos, dermatites, surdez, vertigem, melena, acidose, hipocoagulabilidade sanguínea, confusão mental, alucinações, delírio e coma.

STEWART (1956) afirmava que o trauma tecidual, liberando o gatilho disparador de todo o sistema de alarme defensivo representado pela histamina, promoveria, por ação deste autacóide, um estímulo na adeno-hipófise para maior liberação do ACTH, o qual, atuando no córtex das glândulas supra-renais, promoveria, pelos seus hormônios, uma redução na liberação e ativação da histamina.

COSTACHE & GOTTLIEB (1966) afirmavam que a ação antiinflamatória dos corticosteróides não era possível de ser explicada por uma ação antagônica específica a algum autacóide de participação nos fenômenos bioquímicos da inflamação. Para os autores, contudo, sua ação deveria ser contrária aquela representada pela hialuronidase.

McKERNES (1969) concluiu que a menor intensidade da resposta inflamatória, promovida pelos glicocorticóides, em especial, decorria do fato de que tais hormônios reduziam a intensidade da dilatação capilar e bloqueariam a libe-

ração da histamina.

SALVA MULET, (1970) endossava a teoria de que os corticosteróides aumentariam a resistência à lise das membranas dos lisossomos celulares, dificultando, portanto, sua ruptura e diminuindo, em decorrência, a quantidade das enzimas proteolíticas livres que viriam aumentar a intensidade da resposta inflamatória.

Para a maioria dos autores o efeito redutor da resposta inflamatória, apresentado pelos corticosteróides, seria obtido por promoverem estes hormônios um aumento na resistência da integridade vascular e reduzirem a sua maior permeabilidade. Apresentariam, ainda, uma atividade potencializada da ação vasoconstritora da noradrenalina, bem como seriam antagonistas da histamina e da serotonina. Finalmente, reduziriam a intensidade da diapedese e determinariam uma debilitação da migração linfocitária e das células com ação macrófágica.

GOODMAN & GILMAN (1973) e SCHERRER & WHITEHOUSE (1979) são unânimes em afirmar que os antiinflamatórios esteróides tem a propriedade de inibir ou retardar o processo de reparação do tecido conjuntivo.

HOOPS (1966) relata em seu trabalho que os corticosteróides podem agir inibindo a síntese de mucopolissacarídeos ácidos, constituintes da substância fundamental do tecido conjuntivo por uma estabilização das membranas dos lisossomos, diminuindo portanto a atividade das enzimas contidas nessas organelas citoplasmáticas e, conseqüentemente, diminuindo

o "pool" de aminoácidos necessários para a subsequente reparação. LECHAT (1975), HEUGHAM & HUNT (1975), e GRELLET & SOUS-SALINE (1975), concordam plenamente com este mecanismo.

Como se pode evidenciar, os corticosteróides apresentam uma atividade acentuada na redução da resposta inflamatória.

Os corticosteróides, no campo da Medicina, vêm sendo usados cada vez mais intensamente, a medida que se tornam conhecidas as características das alterações patológicas e os seus prováveis fatores etiopatogênicos em um grande número de moléstias. Contudo, quer nos parecer que a corticoterapia tem recebido um incentivo de uso também pelo fato da não existência, ainda, de medicamentos dirigidos a terapêutica curativa de algumas moléstias, nas quais estas drogas atuariam com efeito clinicamente observáveis.

"Os corticosteróides inibem a resposta inflamatória, sendo sua ação mais marcante sobre a fase tardia (proliferativa) e, em clínica, são eficazes sobre os processos crônicos como a artrite reumatóide" (LECHAT, 1975).

Em uma análise conjunta da opinião emitida pelos vários autores que avaliaram a utilização dos corticosteróides, como drogas antiinflamatórias de uso no pós-operatório de cirurgias buco-dentais, pode-se concluir que:

1 - Os seus efeitos farmacológicos, na redução do edema e da dor, ficaram comprovados, mostrando, portanto, sua eficácia como droga antiinflamatória.

2 - A sua interferência desfavorável sobre a reparação tecidual, quando usados para a redução da resposta inflamatória fibroprodutiva, foi demonstrada por vários investigadores.

3 - Frente a interferência exercida sobre o metabolismo proteico, com redundante redução sobre a resposta antígeno-anticorpo, tem sido adotado o seu uso concomitante - mente com o dos antibióticos.

4 - Pela sua atividade de intensa irritação sobre a mucosa gástrica, deve ser abolido seu uso de pacientes com históricos de úlcera e de gastrite.

5 - Por interferência no metabolismo glicídico, não devem ser administrados a pacientes com distúrbios do metabolismo dos açúcares, em especial aqueles portadores de diabete melito.

Todos os aspectos desfavoráveis retrodescritos, provavelmente, alicerçaram a opinião emitida por SALVA MULET (1970) de que o uso dos corticosteróides deve se fundamentar em uma real avaliação entre o benefício obtido pela administração da droga e o risco iatrogênico desencadeado.

Concordamos completamente com a afirmativa de BELLOMI (1968) de que "frente aos efeitos colaterais, em um campo como o é aquele da Odontoestomatologia, a administração sistêmica dos hormônios córtico-supra-renais, não pode encontrar mais do que uma limitada aplicação".

C<sub>1</sub>) *Betametasona* (Celestone Soluspan<sup>(R)</sup>)

Celestone Soluspan<sup>(R)</sup> é um corticosteróide injetável que contém em cada ampola de 1 ml: 3 mg de fósforo de betametasona (solúvel) de ação imediata e 3 mg de acetato de betametasona (sob a forma de microcristais) de ação lenta e prolongada (AÇÃO "DEPOT").

Do ponto de vista farmacológico o produto é muito interessante. Os estudos realizados em animais de experimentação, não revelam nenhuma toxicidade (NIERMAN, 1961).

A reabsorção dos microcristais do acetato de betametasona se realiza no transcorrer de 10 dias, sem que produza intolerância local.

Segundo publicação da Shering Corp., 1967 "DERMATOSES" que respondem a corticoterapia o produto possui uma atividade antiinflamatória prolongada, que se manifesta nas primeiras horas subsequentes à injeção, alcançando o máximo de atividade entre o 4º e 6º dia começando a decair entre o 8º e 10º dia. Após o 10º dia, a reinstalação do fenômeno inflamatório não ocorre de forma acentuada e a ação do medicamento se atenua progressivamente.

Para o paciente um produto com estas características oferece dupla vantagem. De um lado, uma tolerância maior; visto que a corticoterapia intra-muscular de ação lenta, pode ser prescrita sem inconveniente aos portadores de úlcera péptica, o que já foi amplamente demonstrado, e por outro lado permite um manejo terapêutico mais simples, já que uma injeção semanal é muitíssimo mais cômoda que vários com-

primidos por dia.

A betametasona é um corticosteróide de sintetizado nos laboratórios de investigações da Shering Corporation. É o corticosteróide mais ativo por via oral pois exerce atividade antiinflamatória 10 a 15 vezes maior que a prednisolona. Este efeito antiinflamatório tão elevado, conseguido com uma dosagem menor que a de outros corticosteróides faz com que a betametasona seja de especial valor no tratamento de curta duração das dermatoses inflamatórias agudas e graves. Como produz uma rápida resolução da inflamação, evita-se, em geral, o aparecimento de efeitos secundários de importância clínica, tais como aumento de peso, retenção hidrossalina, anorexia e debilidade muscular. Nas dermatoses graves que respondem à administração oral de corticosteróides, a betametasona produz uma rápida melhora clínica com doses que oscilam entre 2 e 8 comprimidos por dia, de acordo com a gravidade da afecção (NIERMAN, 1961).

### *Experiência Clínica*

Desde o ano de 1961, quando seu advento foi qualificado como "possivelmente o avanço mais importante desde o descobrimento da prednisona e prednisolona" até o presente, o betametasona foi universalmente aclamado pela extraordinária rapidez e potencia de sua ação antiinflamatória, antialérgica e antipruriginosa em doses consideravelmente menores que outros corticosteróides.

Nierman administrou betametasona a 494 pacientes com diversas dermatoses que respondiam à corticoterapia e

comprovou que era "sumamente eficaz em doses consideravelmente mais baixas do que as de outros corticosteróides". Os resultados obtidos foram considerados de bons a excelentes em todos os pacientes com exceção de 7 casos de psoríase que também não haviam respondido à administração de triamcilonona. Em outro estudo que compreendia casos graves de dermatoses profissionais ou industriais, o mesmo autor comprovou que um tratamento baseado na administração de 6 comprimidos de betametasona no primeiro dia, seguido de uma redução progressiva de um comprimido por dia, até chegar à uma dose de manutenção de 1 comprimido diário, durante 2 a 7 dias, produzia resultados "excelentes" para eliminar as manifestações agudas. "Com efeito, este é o tratamento preferido nas dermatoses agudas de contato". Schnyder comprovou que "com uma dose de 1 ou 2 comprimidos de betametasona é possível conseguir um completo controle do eczema disidrótico essencial". Em um estudo em que participaram 201 pacientes com diversas dermatoses agudas de curta duração, GANT e colaboradores consideraram que os resultados conseguidos com a betametasona "foram surpreendentes e superaram os obtidos com emprego de outros corticosteróides".

Revisão feita na literatura médica mundial atesta que a betametasona é o corticosteróide atualmente disponível, que menos inconveniência apresenta para os doentes. A seguir são transcritos alguns comentários feitos sobre a betametasona, desde que foi apresentado à classe médica em 1961: "O betametasona é quase totalmente isento de efeitos secundários". "A incidência de efeitos secundários (3%) foi notavelmente baixa" "não foram observados efeitos secundários que impedissem a administração de betametasona. Betametasona apre-

senta tal margem de segurança que pode ser considerado o mais ativo, o mais uniforme e o menos perigoso, isto é, o mais prático dos corticosteróides atuais "nos casos submetidos a tratamento prolongado não produziu efeitos secundários diferentes como acontece com outros corticosteróides". "Não se observou nenhum efeito secundário exceto em uma paciente na qual se manteve a retenção hidrossalina produzida por outros corticosteróides administrativos anteriormente"

#### *Modo de Ação*

As modificações efetuadas na fórmula da prednisona, introduzindo um grupo metílico no carbono 16 e a mudança de posição 16 alfa para a posição 16 beta, foi que permitiu o aumento da potência antiinflamatória, antialérgica e anti-reumática. Por ser mais potente que qualquer dos corticosteróides em uso, é possível o emprego de dosagens consideravelmente menores com resultados terapêuticos satisfatórios. A vantagem desta redução de dosagem está na diminuição do aparecimento dos efeitos colaterais, tendo o paciente uma grande margem de segurança, como vem relatado na publicação "DERMATOSES", que respondem à corticoterapia (Shering Corp.).

A Betametasona não produz retenção salina, não sendo por esta razão, necessárias, com raríssimas exceções restrições de sal para pacientes que fazem uso deste corticóide.

É escassa a eliminação de potássio nos pacientes que fazem uso da betametasona. Esta modificação eletrolítica é de particular importância no tratamento da febre reumática

tica com comprometimentos cardíacos, bem como no enfisema e nas fibroses pulmonares.

A betametasona pode mascarar os sinais de infecções.

Pacientes sob terapia com batametasona sujeitos a stress podem ser acometidos de síndrome de insuficiência supra-renal aguda.

Enquanto fizer uso de corticosteróides o paciente não deve sofrer processos de imunização (vacina).

A betametasona representa um grande avanço no campo de corticoterapia parenteral.

É o único preparo que proporciona em uma mesma injeção a rápida ação antiinflamatória de um corticosteróide em solução com a prolongada eficácia do mesmo corticosteróide em suspensão. Esta extraordinária característica de proporcionar simultaneamente atividade antiinflamatória imediata e prolongada além do fato de ser sumamente ativo em doses mínimas e bem tolerado localmente, tornaram muito valor no tratamento, eficaz e sem inconvenientes, de uma ampla variedade de processos inflamatórios:

1 - Nas afecções reumáticas e do colágeno; artrite reumatóide, reumatismo articular agudo, lúpus eritmatoso.

2 - Afecções músculo esquelético: artrite gotosa aguda, bursite, epicondilite, fibrosite, miosite, tenos-

sinovite, torcicolo, cistos sinoviais.

3 - Afecções dermatológicas: neurodermatite ,  
líquen plano hipertrófico, verrugas e quelóides.

4 - Afecções alérgicas; estado de mal asmático,  
asma, brônquica, febre do feno, bronquite alérgica, rinite  
alérgica perene, dermatite de contato, dermatite.

5 - Síndrome da membrana hialina.

6- Outras doenças: síndrome adrenogenital, colite,  
radicolites, diversas afecções pediátricas, pré e pós  
operatório.

## 2. PROPOSIÇÃO

Com base nos relatos anteriormente apresentados, propomo-nos, no presente trabalho, a estudar histologicamente, em ratos, os efeitos de agentes antiinflamatórios com princípios ativos diversos:

Um não enzimático e não esteróide (piroxicam), um enzimático (papafna), e um esteróide (betametasona), no processo de formação do tecido de granulação.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Seleção de animais

Nesta pesquisa utilizamos 40 ratos (*Rattus norvegicus*, *Albinus*, Wistar), adultos jovens (120 dias), machos, pesando entre 150 a 160 g.

Os animais foram escolhidos após desmame, sendo alimentados com ração balanceada padrão e água "*ad libitum*".

Limparam-se as gaiolas, e trocou-se a alimentação diariamente. Ao atingirem a idade desejada, os ratos foram submetidos aos procedimentos de implantação de esponja.

#### 3.2. Material usado

- campânula de vidro
- mesa cirúrgica para ratos
- tesouras de ponta fina e ponta romba
- pinças diversas
- placas de Petri
- porta-agulhas
- agulhas de sutura
- seringas centesimais de 1,0 ml
- agulhas hipodérmicas descartáveis

- esponjas de policlorovinil (PVC)
- fios de algodão para sutura
- algodão hidrófilo e gaze esterilizada
- solução antisséptica (Germ-Hand, Darrow - La  
boratórios S/A)
- éter sulfúrico (Indafarma, Ind. e Com. -  
Prod. Químicos)

### 3.3. Implantação das esponjas

Fragmentos de esponjas de policlorovinil (PVC) medindo 0,7 x 0,7 x 0,7 cm, esterilizadas em autoclave, foram implantados subcutaneamente nos animais, da seguinte maneira:

Após anestesia com éter sulfúrico, depilou-se a região dorsal mediana traseira dos animais, e praticou-se uma incisão de aproximadamente 1,5 cm, paralelamente ao longo eixo da coluna vertebral. Com o auxílio de uma tesoura de ponta romba, procedeu-se à divulsão dos tecidos, para facilitar a introdução da esponja. A esponja foi introduzida com uma pinça apropriada, tão longe quanto possível do local da incisão, com o objetivo de evitar que a formação do tecido de granulação fosse prejudicada pelo processo de cicatrização da incisão. Uma vez implantada a esponja, a incisão foi suturada com 2 pontos separados. Todos esses procedimentos descritos foram conduzidos sob rigorosas condições de assepsia.

O momento no qual foi realizada a implantação do fragmento de esponja, passou a ser denominado, em nosso experimento, de *Tempo Zero*.

### 3.4. Distribuição dos grupos experimentais

Os animais foram distribuídos em 4 grupos, cada um contendo 10 ratos, sendo 2 para reserva. Esse cuidado tornou-se necessário, devido à possibilidade de ocorrer um processo infeccioso ou mesmo a morte de algum animal.

Após marcados, para facilitar a identificação, os animais foram submetidos aos seguintes procedimentos:

GRUPO A - Os animais deste grupo, a partir do *Tempo Zero*, foram injetados com solução salina (0,9%), via intraperitoneal, cada 24 hs, durante 3 dias, diante disso foi denominado grupo controle.

GRUPO B - Os animais deste grupo, a partir do *Tempo Zero*, foram injetados com betametasona, via intraperitoneal, na dosagem de 0,0428 mg/kg, em dose única.

GRUPO C - Os animais deste grupo, a partir de *Tempo Zero*, foram injetados com papaína, via intraperitoneal, na dosagem de 285,74 U/kg cada 6 hs, durante 3 dias.

GRUPO D - Os animais deste grupo, a partir do *Tempo Zero*, foram injetados com piroxicam, via intraperitoneal, na dosagem de 0,3 mg/kg cada 24 hs, durante 3 dias.

As drogas utilizadas foram:

Betametasona - CELESTONE SOLUSPAN® - Shering S/A

Papaína - TROMASIN® - Warner Ltda

Piroxicam - FELDENE® - Pfizer S/A

É necessário frisar-se que os animais foram pesados diariamente e, os volumes injetados calculados a partir dessas pesagens. Procurou-se deste modo, evitar a administração de dosagens menores ou maiores que as previstas e estabelecidas anteriormente. Os volumes injetados foram padronizados de acordo com o peso dos animais, independentemente do grupo, descartando-se assim a possibilidade deste fator interferir em alguns resultados. Os intervalos de administração das drogas, foram rigorosamente obedecidos.

### 3.5. Sacrifício dos animais

Todos os animais foram novamente anestesiados com éter sulfúrico e, após tal procedimento, foram removidos os tecidos para estudo. Feitas as remoções, os animais foram sacrificados com golpe occipital. Os tempos de sacrifício, em relação ao momento da implantação das esponjas (*Tempo Zero*), foram: 07, 14, 21 e 28 dias. Para cada tempo foram sacrificados 2 elementos de cada grupo. Escolheu-se o início da avaliação a partir do 7º dia, pois, neste tempo a fase proliferativa da resposta inflamatória está bem estabelecida.

### 3.6. Coloração com Hematoxilina-Eosina

Um lote de 32 ratos, sendo 8 por grupo e 2 para cada dia de sacrifício forneceram material para os estudos comparativos de morfologia e evolução quantitativa do tecido de granulação.

Sacrificados os animais e retirados os tecidos de granulação, estes foram lavados em solução fisiológica e fixados em formol cálcio à 10%, durante 24 hs., à temperatura ambiente. Após a fixação, os tecidos foram incluídos segundo a técnica de rotina e corados com hematoxilina-eosina.

#### 4. RESULTADOS

O tecido envolvido na área inflamada respondeu à agressão do corpo estranho, no caso a esponja de PVC, com fenômenos proliferativos. Estes são caracterizados por uma proliferação de vasos e de fibroblastos que se dispõem à volta da área injuriada. Os fibroblastos iniciaram a deposição de colágeno, e ao fim de alguns dias formaram ao redor da esponja uma cápsula fibrosa, que identifica uma reação inflamatória de corpo estranho. É a partir dessa cápsula fibrosa que os elementos celulares migraram para o interior da esponja, através de seus poros, e começaram a proliferar.

A sequência de proliferação dos tecidos de granulação, nos dias de desenvolvimento estudados, dentro dos diferentes grupos, foi a seguinte:

##### 7 DIAS :-

Nas Figuras 1 e 2 (Fotos A), correspondentes ao tecido que não sofreu a interferência de agentes medicamentosos (grupo controle), nota-se primeiramente a cápsula fibrosa envolvente perfeitamente delineada. É a partir desta cápsula, que o tecido de granulação inicia sua proliferação. Portanto o tecido de granulação neste grupo apresenta-se com uma grande quantidade de fibroblastos de forma arredondada em franca proliferação, a partir da cápsula fibrosa que envolve a esponja. Neste tecido em proliferação existem ainda poucas

fibras colágenas e grande quantidade de fibroblastos, bem como alguns linfócitos, plasmócitos, fibrina e discreta hipere-mia. Analisando comparativamente os demais tecidos, obtidos de animais que receberam tratamento com agentes antiinflamató-rios, com o tecido controle, pode-se notar que o tecido mos-trado na Foto B, corresponde ao grupo de animais tratados com betametasona, demonstrou uma menor proliferação fibroblástica e quase nenhuma presença de fibras colágenas com escassa quan-tidade de linfócitos, plasmócitos, exudato e heperemia, bem como discretos capilares neoformados. Portanto este tecido apresentou-se com desenvolvimento bastante retardado em rela-ção ao grupo controle.

Análogamente o tecido proveniente dos animais injetados com papaína Figuras 1 e 2 (foto C), apresentou-se inibido, mostrando pequena quantidade de fibras, e em relação aos dois grupos anteriores, mais volumoso. Por outro lado, o tecido obtido de animais tratados com piroxicam mostrou-se bas-tante semelhante ao do grupo controle, no que diz respeito a fibroblastos, fibras colágenas e demais elementos celula-res. Pode-se também afirmar que o mesmo está mais desenvol-vido e mais compacto que os dos demais grupos. Figuras 1 e 2 (fotos D).

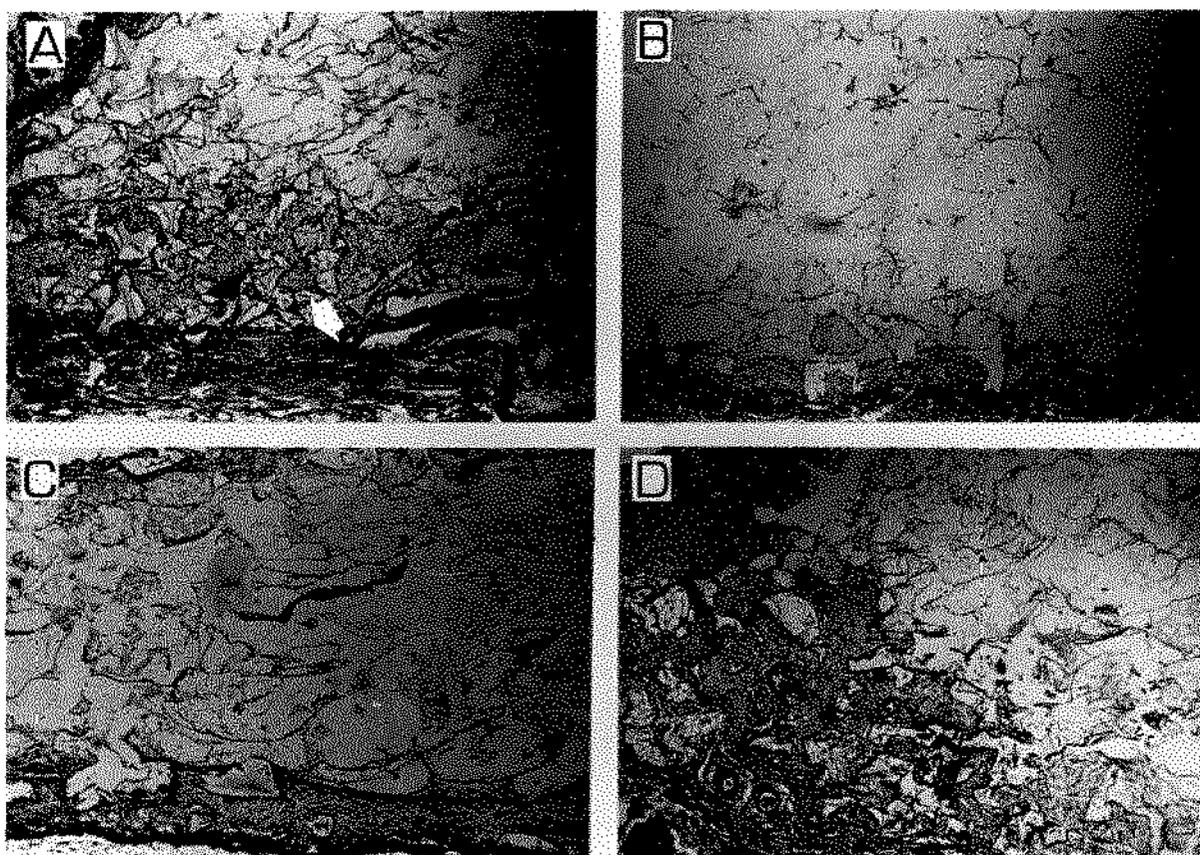


Figura 1. Tecido de granulação dos diferentes grupos, aos 7 dias de desenvolvimento. Observa-se na Foto A, a cápsula fibrosa envolvente (seta). Aumento original 12,5 X.

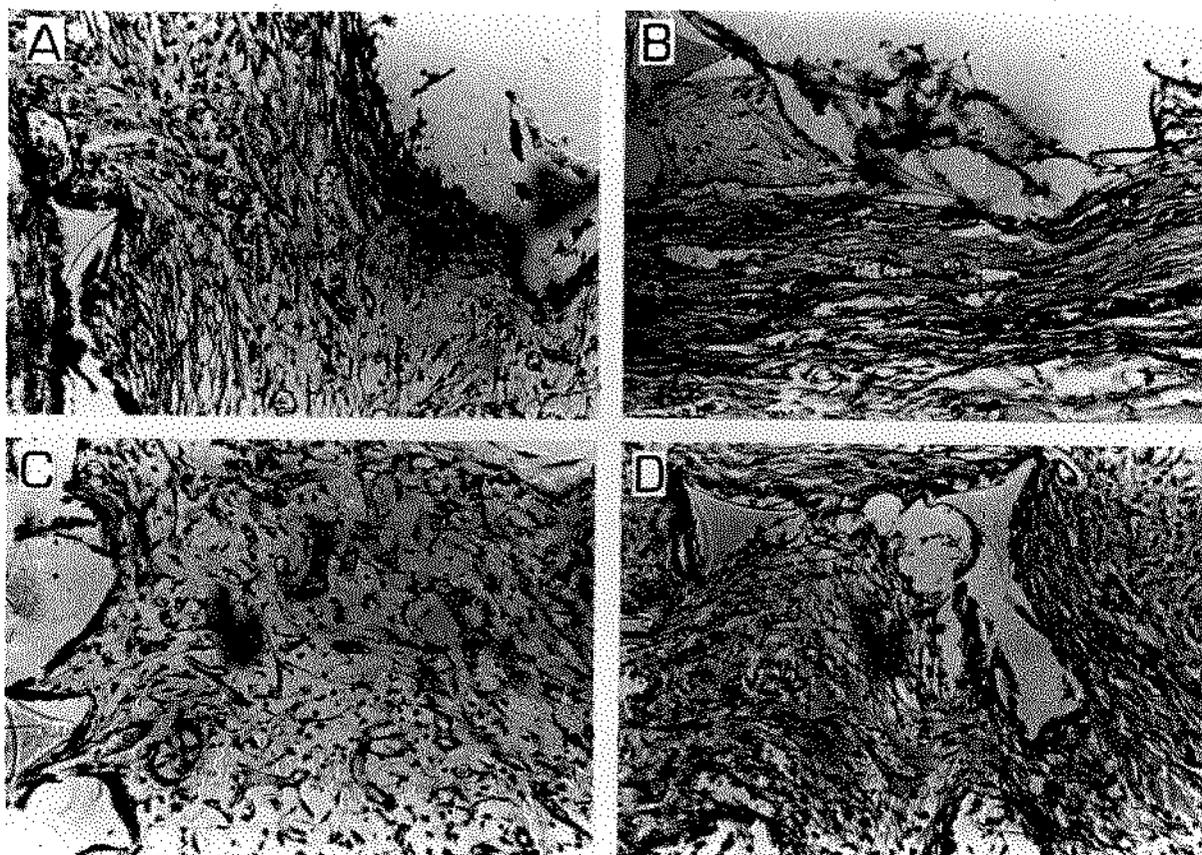


Figura 2. Tecidos de granulação aos 7 dias. Nota-se que os tecidos correspondentes às fotos B e C apresentam-se com desenvolvimento retardado com relação ao grupo controle. Na foto D, o desenvolvimento do tecido é superior àquele do grupo controle. Aumento original 80 X.

## 14 DIAS

A vista geral proporcionada pelas figuras 3 e 4, mostrou que os tecidos correspondentes às fotos A e D continuam normalmente seu ritmo de desenvolvimento com maior quantidade de fibras colágenas, em relação aquelas apresentadas aos 7 dias, ocupando quase todos os espaços da esponja, que, a esta altura, começou a ser comprimida. Nota-se que os feixes de colágeno do tecido dos grupos A e D estão bem direcionados. Com relação ao grupo B, observa-se que o aspecto do tecido é de uma significativa inibição proliferativa, caracterizando-se pela ausência de fibras colágenas e vasos sanguíneos. O grupo C apresenta-se também com desenvolvimento retardado, conseqüentemente menos maduro e menos fibroso em relação ao grupo controle, devido talvez a um maior metabolismo. As células inflamatórias são bastante numerosas.

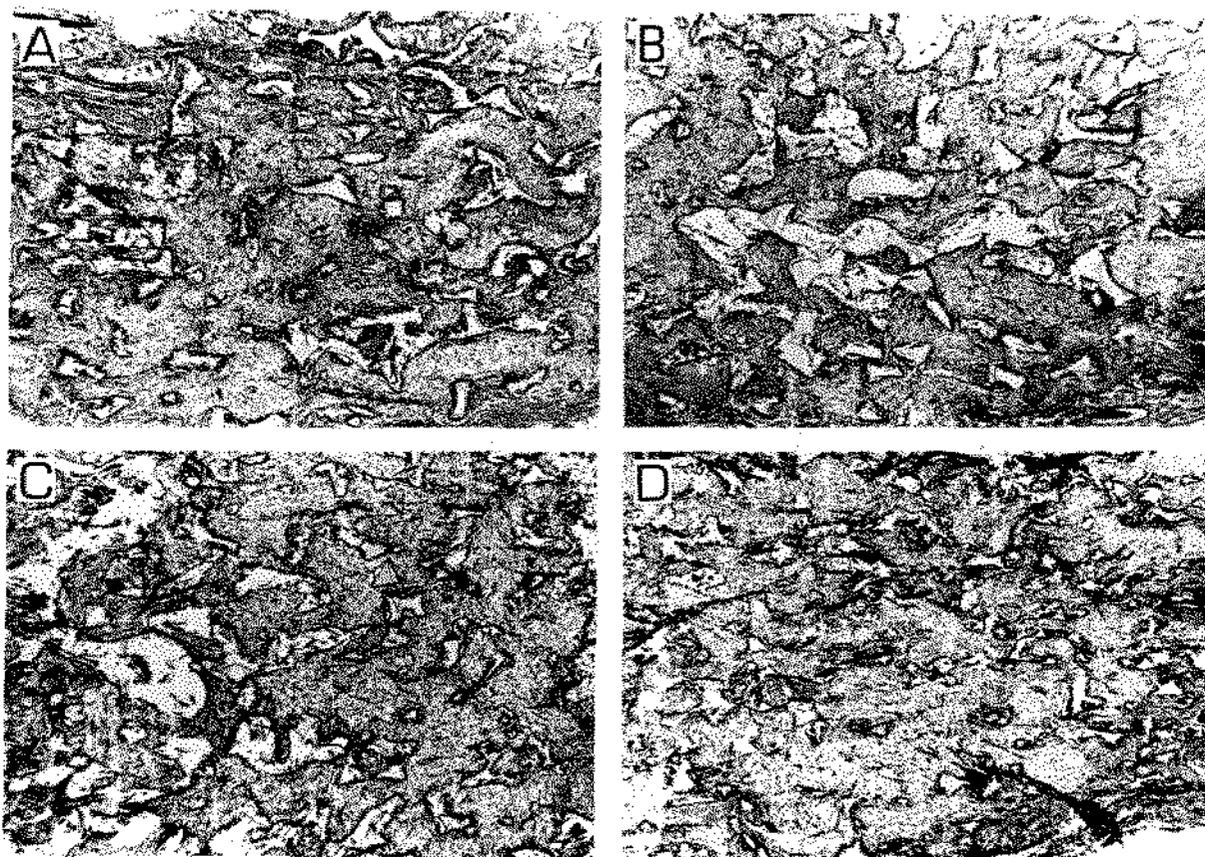


Figura 3. 14 dias de evolução dos tecidos. Os tecidos correspondentes as fotos A e D continuam seu desenvolvimento normalmente, apresentando maior quantidade de fibras colágenas e maior fibrosamento em relação aos 7 dias. Enquanto que os tecidos correspondentes as fotos B e C continuam inibidos. Aumento original 12,5 X.

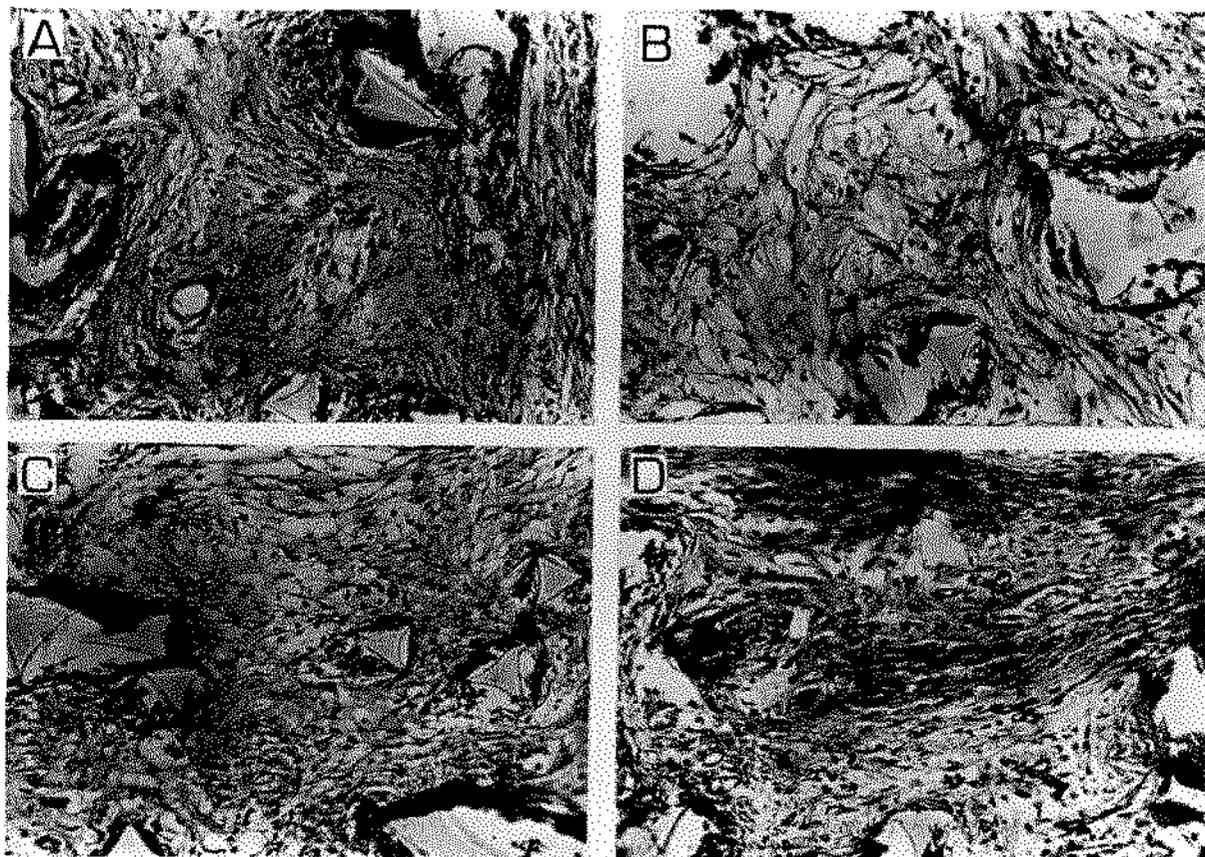


Figura 4. Mesmo tempo de estudo (14 dias), confirmando as observações anteriores, notando-se ainda a inibição da proliferação do tecido referente à foto B. Pode-se observar também, em relação ao tecido tratado com papaína (foto C), maior quantidade de células inflamatórias e menor quantidade de fibras. O tecido tratado com piroxicam mostra-se altamente fibroso. Aumento original 80 X.

## 21 DIAS

Após três semanas de evolução, as diferenças entre os quatro grupos, com relação ao grau de maturação, foram proporcionais aos descritos no tempo 7 e 14 dias. As figuras 5 e 6 mostram uma vista geral dos tecidos de cada grupo. Nota-se que a quantidade de fibroblastos e de fibras colágenas continua aumentando, provocando diminuição considerável nos espaços dos poros da esponja. Foi visível a inibição da síntese e maturação do colágeno do tecido pertencente ao grupo B, tratado com betametasona. Por outro lado, as mesmas figuras 5 e 6 (foto C), o tecido tratado com papaína apresentou-se com desenvolvimento ainda retardado em relação ao grupo controle. Observa-se também a presença de células gigantes no seu interior (macrófagos).

O tecido D, tratado com piroxicam, apresentou grande fibrosamento, com diminuição da população fibroblásticas, o que indica a maturação do tecido de granulação, podendo-se sugerir que, comparativamente, este tecido está melhor organizado que o do grupo controle (foto A) e que este, por sua vez é superior qualitativa e quantitativamente ao dos grupos B e C (figuras 5 e 6).

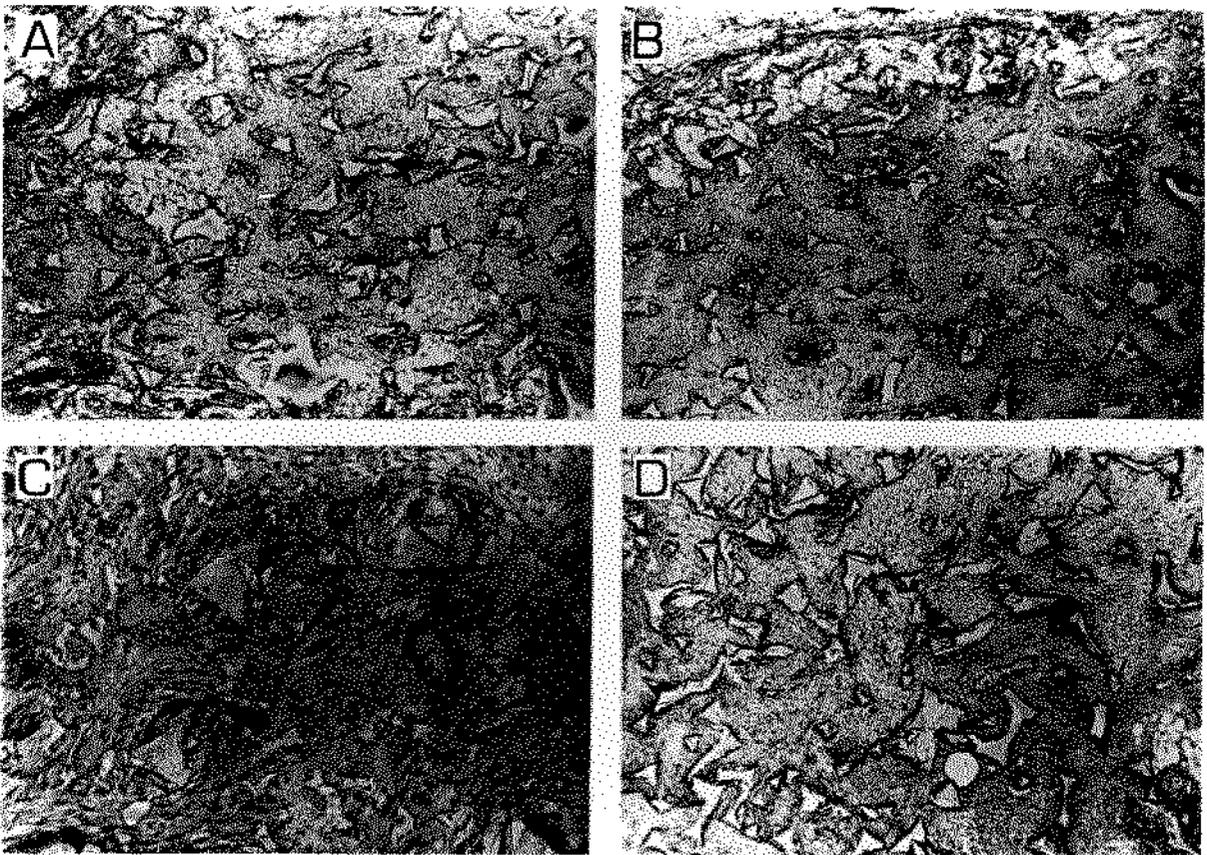


Figura 5. Tecidos de granulação, 21 dias após implantação. O fibrosamento continua aumentando, com exceção do tecido tratado com betametasona, que permanece ainda inibido em relação ao grupo controle (foto B). Aumento original 12,5 X.

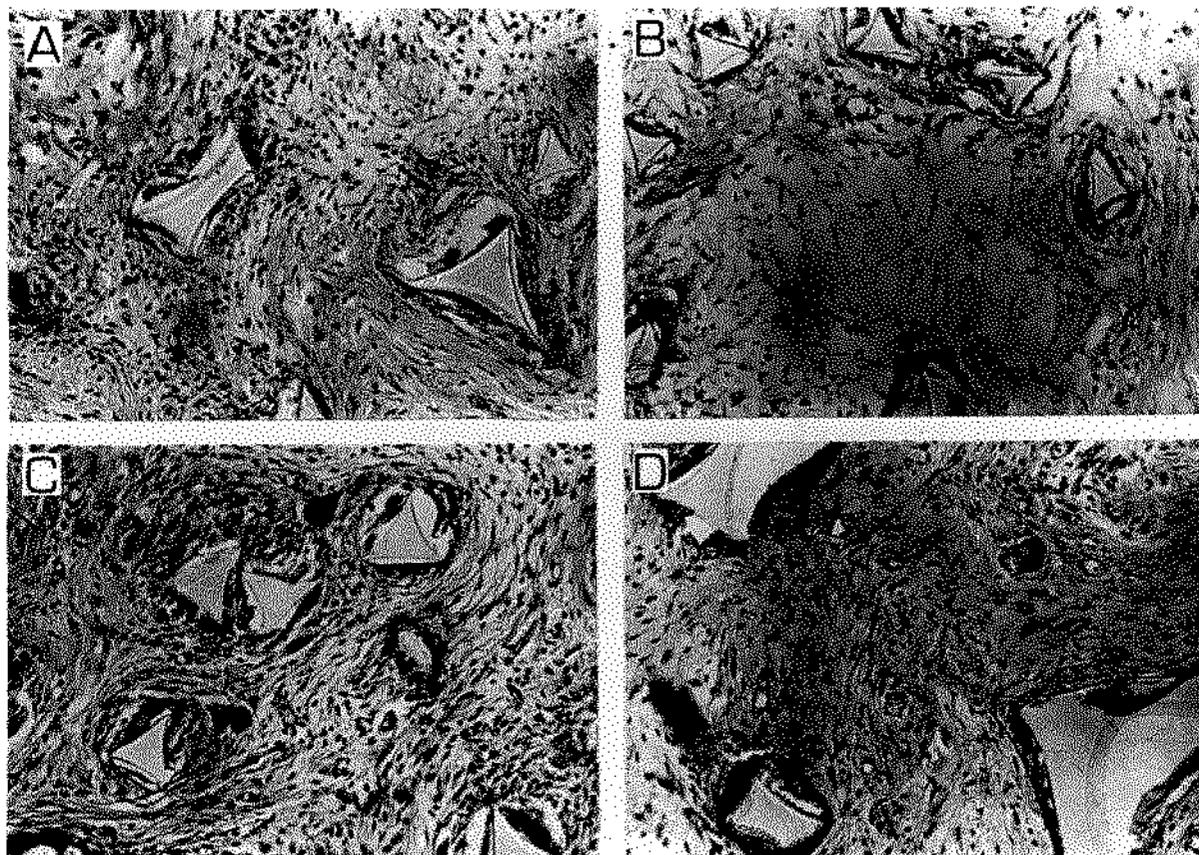


Figura 6. 21 dias de evolução dos tecidos. O aspecto de desenvolvimento dos tecidos correspondentes as fotos A e D são bastante semelhantes enquanto que o tecido correspondente a foto B, permanece com desenvolvimento ainda retardado. Nota-se a presença de células gigantes fagocitárias, bastante nítidas no tecido tratado com papaína, que apresenta-se ainda pouco menos fibroso que o do grupo controle (foto C). Aumento original 80 X.

28 DIAS

Os tecidos dos grupos A (controle) e D (píroxicam) neste tempo apresentam-se completamente maduros.

Espessos feixes de fibras colágenas tomaram todos os espaços da esponja. A celularidade diminuiu, bem como a neoformação de capilares sanguíneos. Os fibroblastos, neste grau de desenvolvimento, são ligeiramente alongados; desaparecem quase que completamente as células inflamatórias.

As fotos B da Figura 7 mostraram ainda que o tecido relativo ao grupo tratado com betametasona apresenta seu desenvolvimento retardado, com infiltrado inflamatório, o que demonstra sua menor maturidade em relação aos tecidos dos grupos A e D. Paralelamente, o tecido obtido do animal tratado com papaína continuou cronologicamente retardado, conforme pode se observar nas figuras 7 e 8 (foto C).

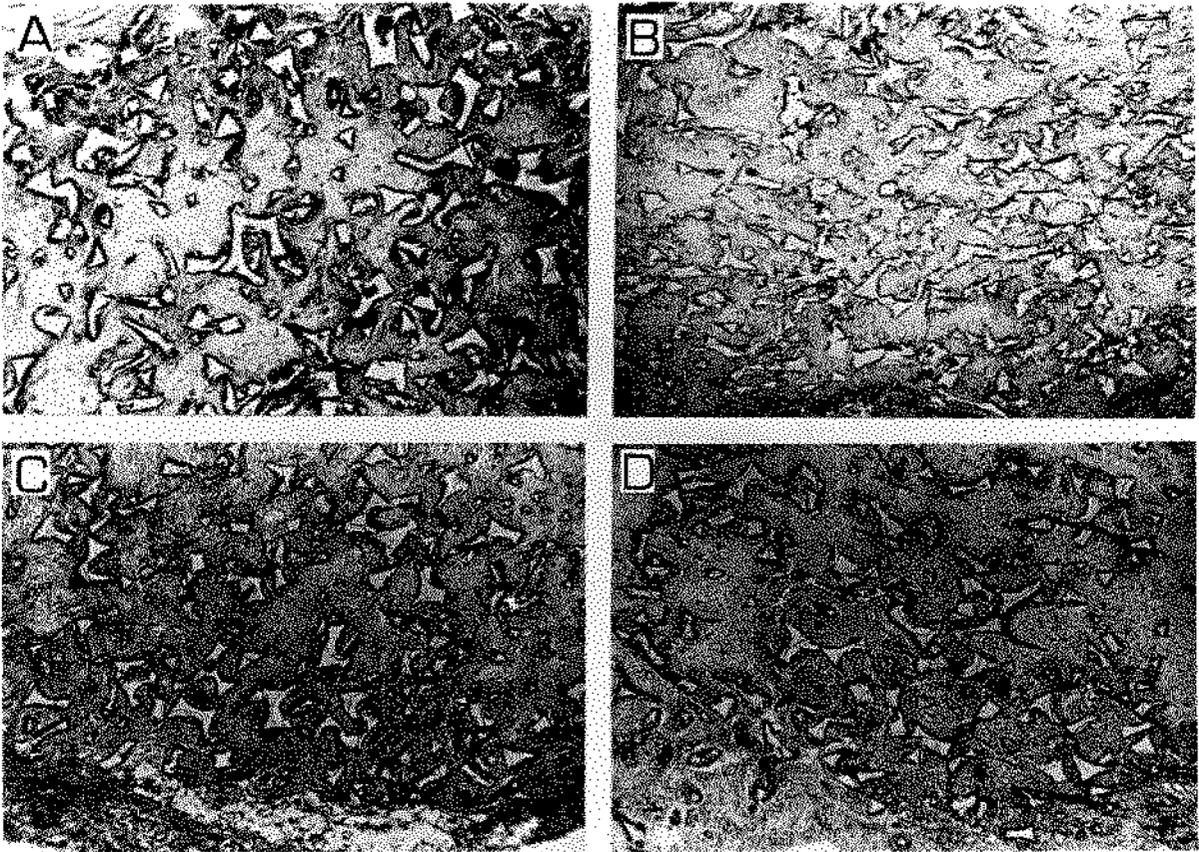


Figura 7. 28 dias de desenvolvimento dos tecidos. Os tecidos relativos aos grupos A e D (fotos A e D) mostram-se bastante evoluídos. Os relativos aos grupos B e C (fotos B e C) mostram-se mais celulares, principalmente o tecido do grupo B. Aumento original 12,5 X.

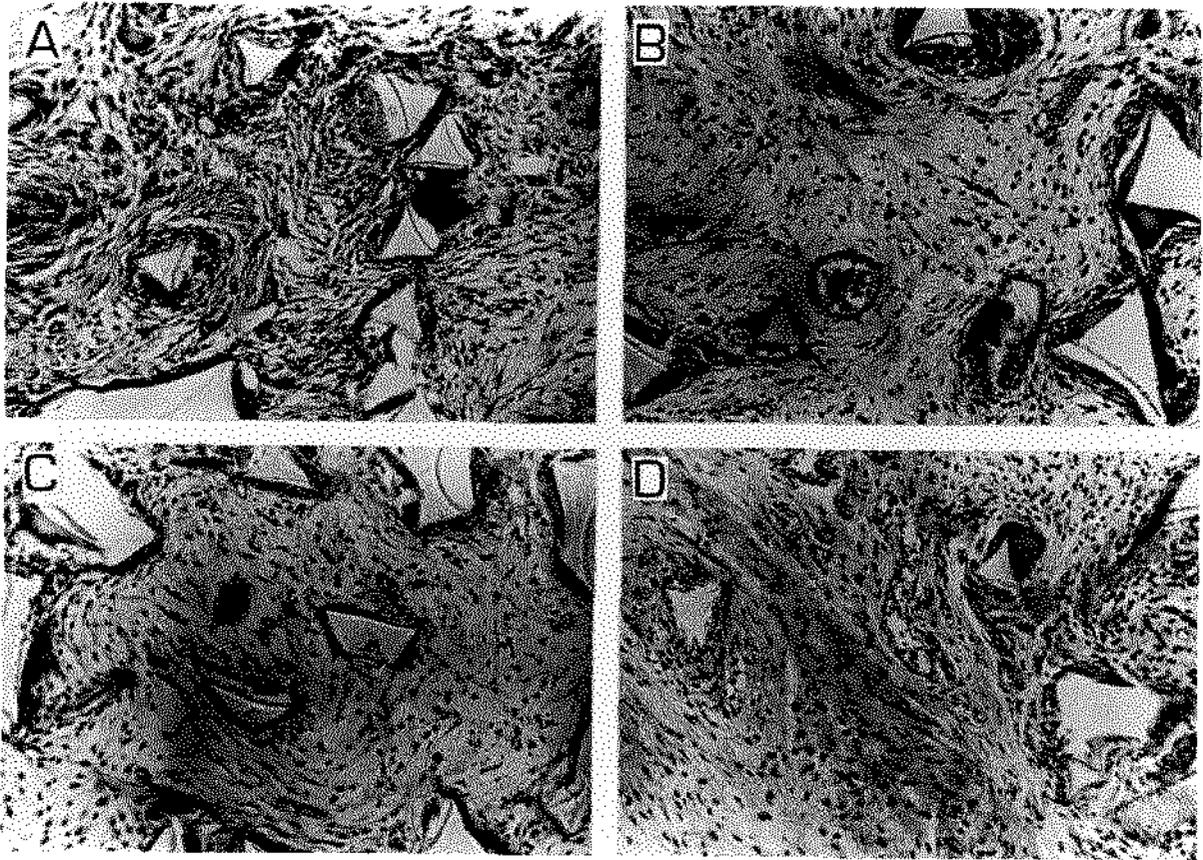


Figura 8. Tecidos de granulação, aos 28 dias de estudo. Observa-se que a celularidade e a neo-formação de capilares diminuíram, aumentando o fibrosamento. O tecido relativo ao grupo D, injetado com piroxicam apresenta-se mais fibroso que os demais grupos, principalmente em relação ao grupo B. Aumento original 80 X.

## 5. DISCUSSÃO

Segundo as investigações realizadas por WOESSNER JR. & BOUCEK (1961) e VIZIOLI (1975), a formação do tecido de granulação em resposta ao estímulo provocado pela esponja inicia-se entre o 3º e 4º dia pós-implantação, por meio da migração de células fibrogenéticas e totipotentes originárias da cápsula fibrosa reacional, com consequente proliferação desses elementos celulares até por volta de 20 dias de evolução, quando então a fase proliferativa propriamente dita termina e estabelece-se a organização e maturação do tecido.

Os parâmetros utilizados para tais avaliações prendem-se à quantidade de células fibroblásticas e mesenquimais e a neo-formação de capilares sanguíneos encontrados nos tecidos.

Com a evolução progressiva da resposta proliferativa, tornam-se fatores importantes o teor de colágeno presente bem como sua agregação em forma de feixes e o direcionamento organizado dado ao mesmo, (ANDRADE, 1980).

Baseando-se nessas observações feitas através de cortes histológicos corados com H.E., pode-se acompanhar a gênese e a proliferação de colágeno no tecido de granulação obtidos de animais sob condições normais, e comparar este padrão tecidual com os tecidos obtidos de animais tratados com drogas antiinflamatórias.

Antes de começar a discussão sobre os resultados obtidos nesta pesquisa, relataremos um conceito formulado por ROSS (1968) bastante oportuno para o presente trabalho.

"Sendo a inflamação o fator básico necessário a um rápido e contínuo estímulo para a fibrogênese, um controle adequado, *porém nunca inibitório*, resulta em melhor evolução de um processo tecidual de reparação".

O estudo morfológico do tecido de granulação que não sofreu interferência medicamentosa (animais do grupo controle) veio confirmar nesta pesquisa, alguns aspectos abordados em trabalhos anteriores. Por exemplo pode-se dizer que os fenômenos proliferativos da resposta inflamatória encontram-se estabelecidos aos 7 dias de evolução do tecido, reforçando o conceito emitido por SHERRER & WHITEHOUSE (1974) e que serviu de fundamento científico para os estudos morfológicos a partir desse tempo de sacrifício.

Fundamentando-se nesses conceitos pode-se discutir em termos comparativos os efeitos provocados na síntese e maturação do colágeno, pelas drogas antiinflamatórias estudadas.

Analisando-se inicialmente a proliferação dos tecidos tratados com betametasona (grupo B) pode-se afirmar que este corticosteróide sintético, na dose única de 0,0428 mg/kg tem sobre a gênese e evolução do tecido de granulação efeito de retardamento na síntese do colágeno.

Isto foi observado no presente trabalho, pela diminuição do número de fibroblastos ativos e consequentemen-

te da fibrogênese, acrescido ao fato de aparecerem, no tecido, áreas de necrose.

Portanto, este achado, hipoteticamente esperado, vem ao encontro das citações de diversos autores que relataram os efeitos anti-proliferativos dos corticosteróides, especificamente os glucocorticóides, (ABREU, 1970; DUJOUNE & AZARNOFF, 1973; GONÇALVES, AGOSTINI & VIZIOLI, 1974 e GREGORI, 1975).

Deve-se acrescentar algumas considerações para explicar tal efeito, baseando-se no mecanismo de ação da droga.

Segundo ABREU (1970), os corticosteróides produzem um decréscimo do número de fibroblastos teciduais, evidentemente provocado por alterações do processo de mitose.

A diminuição da população fibroblástica redundará na deficiência de síntese de mucopolissacarídeos ácidos. A síntese proteica também é inibida, segundo este autor, devido à droga se ligar a uma proteína plasmática, formando um complexo.

Este complexo ligar-se-ia ao núcleo da célula fibroblástica, especificamente a estrutura do DNA, provocando uma inibição da formação do RNA mensageiro, o que interferiria na síntese de proteína, no caso presente na síntese de colágeno.

Com relação ao efeito antiinflamatório do piroxicam, podemos afirmar que sua ação se prende à inibição da

biossíntese de prostaglandina, não dependendo do estímulo das supra-renais para produzir tal efeito.

O piroxicam afeta nitidamente a migração das células para o ponto de inflamação e acarreta uma inibição da agregação plaquetária induzida pelo colágeno, dependendo da concentração da droga, a qual por si só pode evitar a liberação posterior de mediadores inflamatórios. Este fenômeno foi estudado, *in vitro*, em plaquetas humanas (mínimas concentrações eficazes de piroxicam,  $10^{-6}$  U) produzindo inibição da agregação plaquetária induzida pelo colágeno, sendo observada uma hora após a administração da droga e persistindo pelo menos 72 horas (WISEMAN, 1980).

O piroxicam não inibe a atividade espasmogênica da histamina, da serotonina, da acetilcolina ou da prostaglandina  $E_2$  em preparação de tecidos isolados.

Observou-se portanto, a partir dos resultados obtidos nos estudos histológicos, que a maturação e desenvolvimento dos tecidos tratados pelo piroxicam é proporcionalmente superior à do grupo controle, durante o processo de evolução.

Paralelamente, constatou-se em relação ao Grupo C (tratado com papaína) que os tecidos apresentaram desenvolvimento discretamente retardado em relação ao grupo controle. Entretanto, esta droga tem uma ação de remoção do exsudato inflamatório, confirmando as observações de PANZONI (1964), que em uma exaustiva revisão bibliográfica, acentuava que o consenso de vários autores firmava, como propriedades princi-

país das enzimas, a sua ação antiflogística, ativando a reatividade orgânica, ação lítica de necrose, ação antiedema, ação anticoagulante e sua ação na fluidificação das exsudações plasmáticas.

As exsudações plasmáticas originárias do maior fluxo sanguíneo renal, bem como do aumento da permeabilidade endotelial determinada por autacóides específicos, formam uma rede de fibrina circunscrite que delimita e restringe localmente os danos tissulares ocasionados pelo traumatismo.

As enzimas proteolíticas, usadas como redutoras do edema, teriam, como afirma PANZONI (1964), uma ação na demolição deste retículo fibrinoso, promovendo mais rápida normalização das sequelas inflamatórias, em especial do edema e microcirculação regional. Entretanto, verificamos em nosso trabalho que a papaína retardou o processo de formação do tecido de granulação, devido à sua ação de desnaturação do colágeno, resultado este divergente das propriedades observados por ANDRADE (1980) referentes à enzima proteolítica tripsina, a qual contribui para a restauração da continuidade biológica, através de lise depósitos de fibrina e material necrótico. Além disso, participaria do restabelecimento da circulação sanguínea e linfática.

Em resumo, fazendo-se uma avaliação global dos efeitos das drogas utilizadas neste experimento, e baseando-se nos resultados obtidos, encontram-se subsídios para a aceleração terapêutica da betametasona em processos inflamatórios nos quais a formação de tecido de granulação torna-se um evento indesejável, como, por exemplo, na artrite reumatóide,

na gota, e em outras patologias similares. Por outro lado, de acordo com a dose, pode-se sugerir a contra-indicação deste mesmo agente antiinflamatório em situações nas quais o tecido de granulação é extremamente importante na sequência de mecanismos que propiciam a reparação do tecido animal.

O piroxicam é utilizado como antiinflamatório quando se deseja uma cicatrização rápida e inibição de sistema enzimático da prostaglandina biossintetase.

A papaína é considerada por muitos autores como medicamento que permite uma redução e inibição do edema inflamatório. Mas apesar disso, discutiremos também os efeitos colaterais das drogas estudados, os quais não podem ser desprezados.

São fartos os trabalhos que relatam as complicações clínicas da terapia corticosteróide; basta citar-se o de DUJOURNE & AZARNOFF (1973), que relataram como efeitos indesejáveis destes medicamentos, o aparecimento ou exarcebação de úlceras pépticas, perfurações intestinais, pancreatites, alterações no metabolismo da glucose e dos lipídeos, osteoporose, reações de hipersensibilidade desde simples urticárias até anafilaxia.

Com relação ao piroxicam, foram observados também alterações na mucosa gástrica, sangramento intestinal, edema principalmente dos tornozelos, descrêscimo nos valores da hemoglobina e do hematócrito, alterações da função hepática, assim como níveis mais elevados de transaminase séricas.

Já no tratamento prolongado com a papaína, os efeitos colaterais encontrados foram raros, podendo algumas vezes ocorrerem distúrbios gastrointestinais, tonturas e reações de hipersensibilidade.

## 6. CONCLUSÕES

Após a discussão dos resultados obtidos na presente pesquisa, julgamos válido concluir o seguinte:

1. A betametasona na dose única de 0,0428 mg/kg demonstrou ser uma potente inibidora da síntese e maturação do colágeno, quando da proliferação do tecido de granulação em ratos.

2. A papaína na dose de 285,7 U/kg, injetada a cada 6 hs, durante 3 dias, inibiu de maneira discreta a evolução do tecido de granulação.

3. O piroxicam, quando administrado em dose de 0,3 mg/kg a cada 24 hs, durante 3 dias, interfere positivamente na síntese e maturação do colágeno, podendo portanto constituir-se em aliado importante dos mecanismos que interferem na reparação tecidual.

## RESUMO

A finalidade do presente trabalho foi o acompanhamento da síntese do colágeno no tecido de granulação induzido artificialmente em ratos, desde uma fase precoce até sua maturação.

Objetivou-se também o estudo dos diversos efeitos de drogas antiinflamatórias, com princípios ativos diferentes, na evolução deste mesmo tecido, comparando-a com aquela observada em animais sob condições normais.

Os resultados obtidos demonstraram que a betametasona na dose de 0,0428 mg/kg é uma potente inibidora da síntese do colágeno, o mesmo acontecendo com a papaína na dose de 285,7 U/kg, esta porém em menor grau.

Paralelamente, o piroxicam na dose de 0,3 mg/kg interferiu positivamente na proliferação do tecido de granulação quantitativamente e qualitativamente.

A partir desses resultados, pode-se concluir que o antiinflamatório esteróide (betametasona) na dose administrada constitui um grande recurso terapêutico, quando houver necessidade de uma inibição do tecido de granulação.

O antiinflamatório enzimático (papaína) por sua vez, constitui em recurso importante quando se deseja remover o exsudato inflamatório.

Ao contrário, o antiinflamatório nãoesteróide e não enzimático (piroxicam) estaria justamente indicado em situações nos quais a síntese, organizada do tecido de granulação fosse objetivo fundamental e de suma importância.

## RÉSUMÉ

La finalité du présent travail a été l'accompagnement de la synthèse du collagène dans le tissu de granulation induit chez le rat à souris dès une phase précoce jusqu'à sa maturation.

Il a été objectivé aussi l'étude des divers effets de drogues antiinflammatoires avec des principes actifs différents, dans l'évolution de ce même tissu, en comparant avec celle observée dans animaux sous conditions normales.

Les résultats obtenus ont démontré que la betaméthasone dans la dose de 0,0428 mg/kg est une puissante inhibitrice de la synthèse du collagène, la même advenant avec la papaine dans la dose de 285,7 U/kg, cette dernière en moindre degré.

Parallèlement, le piroxicam dans la dose de 0,3 mg/kg intervient positivement dans la prolifération du tissu de granulation quantitativement et qualitativement.

À partir de ces résultats, on peut conclure que le antiinflammatoire stéroïde (betaméthasone) dans les doses administrées constitue un grand recours thérapeutique, quand il y a eu de la nécessité d'une inhibition du tissu de granulation.

Le antiinflammatoire enzymatique (papaina), par sa part est une substance important quand il faut remuer l'exsudate inflammatoire.

Au contraire, le antiinflammatoire non steroïde, et non enzymatique (piroxicam) seraint justement indiquē dans situations tel quel la synthēse, rapide organizēe du tissu de granulation et fut objet fondamental et de capital importance.

## SUMMARY

The aim of the present work has been the attendance of the synthesis of the colagene in the tissue of granulation induced artificially on mice since a premature phase until its maturation.

It has been objetivized also the study of the several effects of drugs antiinflammatory, with different active principles, in the evolution of this same tissue, comparing it with that observed on animals under normal conditions.

The obtained results demonstrated that the betametasone in the dose of 0.0428 mg/kg is a potent inhibitor of the sunthesis of the colagene, the same occurring with the papaine in the dose of 285.7 U/kg this however in a lesser degree.

Similarly, the piroxicam in the dose of 0.3 mg/kg interfered positively in the profileration of the tissue of grannulation quantitatively and qualitatively.

From these results, one may conclude that the steroid antiinflammatory (betametasona) in the administered dose constitutes a great therapeutic resource, when there has been necessity of an inhibition of the tissue of granulation.

The enzymatic antiinflammatory (papaine), on their part constitutes an important mid when one wants to

remove the inflammatory exsudate.

On the contrary, non steroid and non enzymatic antiinflammatory (piroxicam) would be justily indicated in situations where the rapid synthesis, organized from the tissue of granulation and that it were a fundamental object and of capital importance.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, E.M. *Reparação alveolar em cães: estudo clínico, radiográfico e histológico em condições normais e sob ação hormonal*. Piracicaba, 1970, p. 66-77 (Tese (Doutoramento) Faculdade de Odontologia de Piracicaba).
- ANDRADE, E.D. *Estudo histológico e histofotométrico do tecido de granulação de ratos em condições e sob a ação de drogas antiinflamatórias*. Piracicaba, 1980. 48 p. (Tese (mestrado) - Faculdade de Odontologia).
- BAZIN, S.; LE LOUS, M.; DELAUMAY, A. Collagen in granulation tissues. *Agents Actions*, 6: 272-6, 1976.
- \_\_\_\_\_ ; PELIETIER, M.; \_\_\_\_\_. The influence of chemical mediators of acute inflammation on the cells of a subacute inflammation. *Agents Actions*, 3: 317-21, 1973.
- BELLOMINI C. Cortisonicoterapia sintonizzata con il bioritmo circadiano dell'ipercrescimento corticosurrenalico. *Rass. Trim. Odont.*, 49: 251-7, giugl./set. 1958.
- BENTLEY, J.P. Rate of chondroitin sulfate formation in wound healing. *Ann. Surg.*, 165: 186-91, 1967.
- BURKE, D.E.; LEWIS, S.D.; SHAFER, T.A. A two-step procedure for purification of papain from extract of papaya latex. *Archs Biochem. Biophys.*, 164(1): 30-6, 1974.

- CACI, F. & GLUCK, G.M. Double-blind study of prednisone and papase as inhibitors of complication after oral surgery. *J. Am. dent. Ass.*, 93(2): 325-7, 1966.
- COHEN, B.H.; LEWIS, L.A.; RESNIK, S.S. Wound healing: a brief review. *Int. J. Derm.*, 14: 722-6. 1975.
- COSTACHE, A. & GOTTLIEB, M. Aspects cliniques de l'utilisation de l'hydrocortisone dans l'œdème post-opératoire. *Rev. Franc. Odont.*, 13: 1451-60, oct 1966.
- DELAUNAY, A. & BAZIN, S. Reparation du tissu conjonctif. *Archs Ophthalm.*, 35: 115-26, 1975.
- DERMATOSES que respondem à corticoterapia: quadro clínico; dados úteis para o diagnóstico; tratamento. Bloomfield, N. J., Schering Corp., 1967. 36 p.
- DRENTH, F.; JANSONIUS, J.N.; KOEKOEK, R.; SVEN, H.M.; WOLTERS, B.G. Structure of papain. *Nature*. 218: 929-32, 1968.
- DUJOVNE, C.A. & AZARNOFF, D.L. Clinical complications of corticosteroid therapy. *Med. Clinics N. Am.*, 57: 1331-41, 1973.
- ENGLER, R. & JAYLE, M.F. Glycoprotéines plasmatiques et processus granulomateux. *Annls Anat. path.*, 21: 45-58, 1976.
- GANT, J.O.; GOULD, A.H.; WELNER, M.A. *M. Ann. Distrito de Columbia* 30. 722, dez 1961, op. cit. ref. "Dermatoses que respondem a corticoterapia".

- GANT, J.O.; GOULD, A.H.. *Primeira conferência sobre a aplicação da betametasona um novo corticosteróide*. Nova York, E.U.A., may 1961.
- GLICK, B. & BRUBACJER, L.J. An examination of the rate assay to determine the active-site normality of papain. *Analyt. Biochem.*, 73: 419-32, 1976.
- GONSALVES, S.H.C.; AGOSTINI, M.L.; VIZIOLI, M.R. "Tecido de Granulação do rato: estudo histoquímico e histológico sob condições normais e sob ação hormonal". *Bol. Fac. Odont. Piracicaba*. (74), 1 a 8, 1974.
- GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 4 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973 . p. 314-16, 920, 1491-514.
- GREGORI, C. Fundamentos e normas para a utilização de drogas antiinflamatórias no âmbito da cirurgia odontológica. *Ars Curandi Odont.* 1(4): 26-9, 1974; 1(5): 43-51, 1974; 1(6):42-5, 1975, 2(1): 33-6, 1975; 2(2): 43-6, 1975.
- GRELLET, M. & SOUSSALINE, M. Action des corticoestéroïdes sur la cicatrisation cutanée. Utilisation en chirurgie maxillo-faciale. *Revue Stomat.*, 76: 379-83, 1975.
- HAILMAN, H.F. ACTH; cortisone versus salicylates. *J. Clin. Endocrinol.*, 12: 454, 1952.
- HEUGHAN, C. & HUNT, T.K. Some aspects of wound healing research: a review. *Can. J. Surg.*, 18: 118-25, 1975.

- HOOPS, H.C. *Patologia*. 2 ed. México, Interamericana, 1966.
- IM, M. J.C.; FRESHWATER, M.F.; HOOPES, J.E. Enzyme activities in granulation tissue: energy for collagen synthesis. *J. surg. Res.*, 20: 121-5, 1976.
- KVINNSLAND, S. Craniofacial Skeletal Changes in Young Rats Induced by Prolonged Papain Administration. *Growth*, 38(3): 381-7, 1974.
- LECHAT, P. Chimie et pharmacologie des glucocorticostéroïdes. *Revue Stomat.*, 76: 353-61, 1975.
- MADDEN, J.W. & PEACOCK Jr., E.E. Studies on the biology of collagen during wound healing. I. Rate of collagen synthesis and deposition in cutaneous wound of the rat. *Surgery*, 64: 288-94, 1968.
- MAGNES, G.D. Proteolytic enzymes in oral surgery. *J.A.D. A.*, 72: 1420-1425, 1966.
- MCKERNS, K.W. Steroid hormones and metabolism. Appeton - Century - Crofts. *Meredith Corp.* 1969.
- Mc MINN., R.M.H. & PRITCHARD, J.J. *Tissue repair*. London, Academic Press, 1969. p.14-40.
- MILLER, O. Analgésico e anti-inflamatórios não esteróides. Revisão e Atualização. *Odont. Mod.*, 5(5): 5-13, 1978.
- MILNE, J. & BRAND, S. Occupational asthma after inhalation of dust of the proteolytic enzyme papain. *Br. J. Ind. Med.*, 34(4): 302-7, 1975.

- MONTENEGRO, M.R. & FRANCO, M.F. *Inflamação (Prog. Nacional de Atualização)* S.L.p., Médica Fontoura Wyeth, 1978.
- NIERMAN, M.M. Trabalho apresentado a conferência sobre Medicina Ocupacional e Toxicologia, 3, Miami, E.U.A., 1961, op. cit. ref. "Dermatoses que respondem à corticoterapia".
- PANZONI, E. Gli enzimi proteolitici in chirurgia orale. *Riv. Ital. Stomat.*, 19: 62-74, gen 1964.
- ROSS, R. The fibroblast and wound repair. *Biol. Rev.*, 43: 51-96, 1968.
- SALVA MULET, J.A. Farmacologia Clínica de los esteróides antiinflamatorias. *APM* 27, 445-52, sept e oct. 1970.
- SCHERRER, R.A. & WHITEHOUSE, M.W. *Antiinflammatory agents. chemistry and pharmacology*. New York, Academic Press, 1974, v. 2, p. 304-24; 369-75.
- SCHYDER, V.M. *Schweiz. Med. Wscht.*, 92: 333, Mar. 1962, op. cit. ref. "Dermatoses que respondem a corticoterapia".
- SHERRY, S. & FLETCHER, A.P. Proteolytic enzymes: a therapeutic evaluation. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1: 202-6, 1960.
- SPECTOR, W.G. & WILLOUGBY, D.A. *The pharmacology of Inflammation*. London. The English Universities Press, 1968.
- STEWART, G.G. The anti histamines and corticoesteroids in the reduction of postoperative sequelae following endodontic surgery. *Oral Surg* 9: 216-20, feb. 1956.

- THOREK, P. & PANDIT, J.K. Proteolytic enzymes in wound repair, immediate postoperative effects. *Appl Ther.*, 6(4): 323-5, Apr. 1964.
- VIEILLEFOSSE; R. & ROUSSIN, E. Les enzymes en therapeutique dentaire Mecanisme d'action. *Rev. Franc. Odont.*, 15:91-6, jan. 1968.
- VIZIOLI, M.R. Dynamics of fibrilar components in rat sponge-induced granulation tissue. *Acta anat.*, 85: 368-77, 1973.
- \_\_\_\_\_. *Relação entre fosfomonoesterases e a síntese de colágeno e mucopolissacarídeos ácidos no tecido de granulação*. Piracicaba, 1975. 65 p. (Tese (Docente Livre)- Faculdade de Odontologia).
- \_\_\_\_\_ & BOZZO, L. *Patologia Geral* Piracicaba, Fac. de Odontologia - Universidade Estadual de Campinas, 1976 235 p. (Apostila).
- \_\_\_\_\_ ; BLUMEN, G.; EL-GUINDI, M.M. Granulation tissue: Histophotometric and radioautographic observations on glycosaminoglycans and collagen synthesis and their relation with alkaline phosphatase. *Annls Histochem.*, 21: 237-45, 1976.
- \_\_\_\_\_ ; BOZZO, L.; VALDRIGHI, L. Alkaline phosphatase activity and the deveopment of rat sponge-induced granulation tissue. *Acta. anat.* 83: 60-9, 1972.

WISEMAN, E.H. Revisão de estudos pré-clínicos com piroxicam; farmacologia; farmacocinética e toxicologia. *Folha med.*, 81 (supl. 1): 699-706, 1980).

WOLSSNER JR., J.F. & BOUCEK, R.J. Connective tissue development in subcutaneously implanted polyvinyl sponge. *Archs Biochem. Biophys.*, 93: 85-94, 1961.