



1150014725



FOP

T/UNICAMP M436e

THALES ROCHA DE MATTOS FILHO

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE ENZIMAS PROTEOLÍTIICAS
E PARACETAMOL NO TECIDO DE GRANULAÇÃO DE RATOS

Tese apresentada a Faculdade
de Odontologia de Piracicaba -
UNICAMP, para obtenção do Títu
lo de Livre-Docente na Área
de Farmacologia, Anestesiolo
gia e Terapêutica.

P I R A C I C A B A

1990

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

BIBLIOTECA

2.664

IN MEMORIAN

AO MEU SAUDOSO PAI, THALES, PELA BONDAD E O
CONSTANTE EXEMPLO DE RETIDÃO DE VIDA.

HOMENAGEM

À MINHA QUERIDA MAE, ZORAB, PELO AMOR, DEDICA
ÇÃO E CARINHO QUE SEMPRE DEDICOU AOS FILHOS.



À MINHA ESPOSA JULIANA
E AOS MEUS FILHO TÂNIA E THALES NETO,
VERDADEIRAS RAZÕES DE MINHA VIDA.

DEDICO ESTE TRABALHO.

Ao PROF. DR. MÁRIO ROBERTO VIZIOLI, PELA
AMIZADE DEDICADA, E PELA AJUDA NA DOCU
MENTAÇÃO FOTOGRÁFICA E INTERPRETAÇÃO
DOS RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS.

MEUS AGRADECIMENTOS ESPECIAIS.

AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Doutor CARLOS ALBERTO VOGT, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, pela manutenção do alto nível de ensino e pesquisa nesta Universidade;
- Ao Professor Doutor RENATO ROBERTO BIRAL, Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela atenção dirigida ao ensino de Pós-Graduação;
- Ao Professor Doutor JOÃO LEONEL JOSÉ, Chefe do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela atenção e apoio recebidos;
- Aos Colegas da Disciplina de Farmacologia, ANTONIO CARLOS NEDER, SAMIR TUFIC ARBEX, MARIA DE LOURDES GARBOGGINI DA GAMA, JOSÉ RANALI, EDUARDO DIAS DE ANDRADE, pela amizade, colaboração e coleguismo;
- Ao Professor Doutor RONALDO WADA, pela orientação e correção dos estudos estatísticos;
- Aos Técnicos, JOSÉ CARLOS GREGÓRIO e MOYSÉS JOSÉ MARIA DA SILVA, pelo auxílio igualmente importante na fase experimental da Tese;
- Às Secretárias, SUZETE REGINA DE BARROS TOBIAS e VILMA BIZUTI DOS SANTOS, pela dedicação na realização de serviços datilográficos, ao longo de todo este Curso;

- Aos Colegas Professores do Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biológicas da Pontifícia Universidade Católica de Campinas - PUCCAMP, pela amizade e incentivo no transcorrer deste trabalho;

- Finalmente a todos, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, nossos mais sinceros agradecimentos.

C O N T E Ú D O

CAPÍTULO I	PÁG.
1. INTRODUÇÃO.....	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	8
CAPÍTULO II	
1. PROPOSIÇÃO DO TRABALHO.....	22
CAPÍTULO III	
1. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
2. SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA.....	30
CAPÍTULO IV	
1. RESULTADOS	
1.1. COLORAÇÃO COM HEMATOXILIN-EOSINA.....	47
1.2. TÉCNICA HISTOFOTOMÉTRICA PARA ESTUDO DA SÍNTESE DE MUCOPOLISSACARÍDEOS ÁCIDOS (GLICOSAMINOGLICANAS). ANÁLISE ESTATÍS TICA.....	60
CAPÍTULO V	
1. DISCUSSÃO.....	83
CAPÍTULO VI	
1. CONCLUSÕES.....	92
CAPÍTULO VII	
1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94
APÊNDICE	
MEDIDAS HISTOFOTOMÉTRICAS.....	103

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O organismo animal funciona harmônicamente , procurando sempre ajustar-se às variações impostas pelo meio ambiente. Os órgãos, tecidos e células, dotados de recursos naturais que se aprimoraram com a evolução das espécies, ganharam em sofisticação e perfeccionismo, cada qual desempenhando seu papel e interagindo-se para manter a homeostase. Diante desse quadro o organismo animal tem mostrado excelente capacidade de adaptação e defesa. A defesa está intimamente relacionada com a necessidade de se manter a vida quando as condições são adversas, podendo se manifestar de muitas maneiras. Assim sendo, quando o organismo sofre algum tipo de agressão que acarrete lesão tecidual, acontece uma grande e complexa sequência de eventos, com a efetiva participação dos vasos sanguíneos do tecido conjuntivo.

A esse fenômeno denominamos INFLAMAÇÃO que pode ser definido como uma reação local do tecido vascularizado às agressões, sendo, portando, um processo homeostático em defesa do organismo ofendido (ROBBINS, 1986).

Logo após a agressão, independentemente do agente agressor, a resposta inflamatória inicia-se, pela liberação local de mediadores químicos como a histamina e a bradicinina, os quais, entre outras ações, promovem o aumento da permeabilidade vascular, e assim agindo, favorecem a passagem de líquidos e células do sangue para o espaço intersticial, dando início à formação do exsudato inflamatório.

É através desse processo exsudativo que o organismo se defende do agente agressor, destruindo-o ou neutralizando-o e, ainda, favorecendo a reparação do tecido agredido.

A reparação inicia-se com a proliferação de fibroblastos e de pequenos vasos sanguíneos que são formados a partir de mitoses de células endoteliais iniciadas após a ruptura da membrana basal.

Sem dúvida, esse é o evento mais importante dentro do complexo mecanismo da reparação tecidual.

Com o objetivo de se estudar os eventos que ocorrem no processo de reparação e cura, tem-se utilizado de diferentes técnicas e modelos experimentais, em animais de laboratório.

Assim, a síntese de colágeno e seu posterior desenvolvimento, foram bastante estudados em tecidos de granulação e numerosas são as pesquisas realizadas, objetivando o estudo da morfologia do colágeno, sua cronologia, bem como sua participação direta e indireta no tecido de granulação (Mc MINN & PEACOCK JR., 1968; ROSS, 1968; VIZIOLI, 1973; COHEN, LEWIS & RESNIK, 1975; VIZIOLI, 1975; DE LAUNAY & BAZIN, 1975; BAZIN, LE LOUS & DE LAUNAY, 1976; BARROS, 1989).

Em geral, a opinião dos autores é de que a síntese de fibras colágenas, no processo de reparação, tem início ao redor do 4º dia pós-injúria, atingindo um grau máximo de desenvolvimento entre 15 e 20 dias, e, posterior

mente, decai progressivamente. A síntese inicia-se através das moléculas de protocolágeno provenientes das células, que se agregam através da polimerização, formando fibrilas de colágeno que se unem em fibras e que podem ser visualizadas ao microscópio óptico.

A união das fibrilas para a formação das fibras colágenas ocorre através de uma substância cementante, constituinte da substância fundamental amorfa, denominada ácido hialurônico, que é um mucopolissacarídeo ácido (glicosaminoglicana) responsável pela formação das fibras e feixes de fibras. Enquanto houver proliferação de fibroblastos, estes compostos estarão presentes no tecido de granulação pois estas células são as responsáveis pela sua síntese.

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

Esses fenômenos relatados ocorrem em quaisquer circunstâncias em que haja agressão, principalmente quando o agente injurante permanece no local da agressão e através desses recursos o organismo trabalha no sentido de isolar o processo com o fibrosamento e encapsulamento.

Para se evitar que o processo adquira sua fase de maturação completa, ou seja, evolua para um granuloma, diversos trabalhos de pesquisa tem mostrado uma preocupação em encontrar substâncias que possam interferir na cronologia de síntese e maturação do colágeno, substâncias essas com propriedades antinflamatórias.

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

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

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

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

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

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

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

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

Essas propriedades das enzimas proteolíticas fizeram com que diversos autores as empregassem para o tratamento de diferentes doenças de caráter inflamatório.

INNERFIELD e colabs. (1952), utilizaram tripsina para tratamento de tromboflebite, através de administração intra-muscular.

MARTIN (1960), tratou lesões ulcerativas, tromboflebitides e arteriosclerose com Parenzime^R, administrado por via muscular, tendo encontrado bons resultados em 75% dos casos.

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

Já SHERRY & FLETCHER (1960), mostram que as enzimas proteolíticas administradas isoladamente ou associadas a analgésicos e antibióticos tem sido indicadas para

tratamento de desordens gastrintestinais, lise de coleções proteicas, como adjuvantes na terapêutica tromboembólica e como anti-inflamatórios.

Na clínica odontológica, é do nosso conhecimento que o emprego de enzimas proteolíticas isoladamente, ou associadas a antibióticos como tetraciclina e ampicilina, ou a analgésico como o paracetamol, tem sido muito frequente.

Apesar da literatura ser escassa encontramos alguns trabalhos que relatam sucesso no emprego das enzimas para intervenções cirúrgicas (FEIMAN e colab., 1967; KIESER e colab., 1977).

Entretanto temos nos deparado com conceituados laboratórios divulgando produtos dessa natureza a alunos e profissionais de Odontologia, ignorando as críticas a que está sujeita essa terapêutica. As dúvidas que existem estão basicamente fundamentadas na nossa incapacidade de entender a passagem das enzimas pelo trato gastrointestinal sem sofrerem lise pelos constituintes do suco digestivo. Paralelamente a esse questionamento é de difícil compreensão a absorção de polipeptídeos pelo trato digestivo. Existe ainda dúvida quanto a livre presença das enzimas na circulação sanguínea pois existem fatores inibidores que servem exatamente para proteger as membranas de vasos e células do ataque proteolítico.

Assim, tomando por base o trabalho realizado por BARROS e colab. (1989), idealizamos este trabalho que acreditamos deverá contribuir para o esclarecimento dos aspectos questionados anteriormente.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Atualmente os novos conceitos de antinflamatórios nos permitem classificá-los em:

- 1) Esteróides que são fabricados na medula das glândulas supra-renais ou sintéticas e que, além de suas ações antiinflamatórias, desempenham importantes funções no nosso organismo, em consonância com as glândulas hipófise e hipotálamo;
- 2) Não esteróides, sintéticos, representados pelo ácido acetil salicílico por seu mecanismo de ação modernamente mais aceito, de inibição da via cicloxigenase de metabolização do ácido aradônico; e
- 3) Enzimáticos que são obtidos de diferentes fontes como a bacteriana (estreptoquinase, estreptodornase), a vegetal (bromelina do abacaxi) e papaina (mamão) e a animal quimotripsina, tripsina (pâncreas de bovinos) e hialuronidase (testículos de bovinos).

Ao revermos a literatura deparamos com numeros trabalhos científicos, laboratoriais e de avaliação clinica, fazendo importantes referências ao uso das enzimas proteolíticas como drogas de ação antiinflamatória, ou como adjuvantes na resolução de processos inflamatórios agudos ou crônicos das mais variadas etiologias. Como veremos a seguir, esses trabalhos tem por objetivo trazer esclarecimentos sobre a farmacocinética e validade do uso das enzimas proteolíticas na terapêutica da inflamação.

A tripsina é uma endopeptidase com capacidade de quebrar cadeias de proteínas através de hidrólise. Essa ação levou INNERFIELD e colab. (1952), a estudarem a sua participação na resolução de trombos intravasculares, experimentalmente induzidos em cães e coelhos. Os resultados mostraram que a tripsina, administrada por via intravenosa, produziu efeitos líticos que impediram a formação de trombos intravasculares nos animais tratados.

Continuando seus estudos sobre o assunto, INNERFIELD e colabs. (1953) constataram que a ação terapêutica da tripsina ocorria pela soma dos seguintes fenômenos:

1) Despolimerização das moléculas proteicas de grande peso molecular;

2) Redução da viscosidade dos fluidos encapsulados e dos produtos de secreção;

3) Potenciação da fagocitose;

4) Restituição do fluxo hemático;

5) Aumento da circulação colateral;

6) Recuperação da drenagem efetiva;

7) Correção das alterações metabólicas por aumento da concentração hidrogeniônica e inibição da glicólise anaeróbica.

Esses fenômenos ocorreriam em correspondência com o local do processo inflamatório.

Entretanto, um dos aspectos que tem sido preocupação por parte dos pesquisadores, ao longo dos anos, diz respeito às vias de administração mais adequadas para a utilização das enzimas proteolíticas.

Assim, MARTIN e colab. (1957), obtiveram inibição do edema induzido experimentalmente em patas de ratos, quando administraram tripsina e quimotripsina por via oral.

MILLER e colab. (1960), através da administração oral de tripsina marcada com ^{131}I , em pacientes, conseguiram evidenciar a tripsina no soro dos pacientes tratados.

KABACOFF e colab. (1963), administraram quimotripsina pelas vias retal, intestinal e intramuscular, em coelhos. Mediram os níveis plasmáticos da enzima através de hidrólise em substratos específicos, e mostraram que as vias intestinal e retal podem ser utilizadas para administração das enzimas, visto que a quimotripsina foi bem absorvida por essas vias, na sua forma enzimática ativa.

BOGNER e colab. (1959), administraram tripsina marcada com ^{131}I , por via sub-cutânea, conseguindo detectar níveis plasmáticos de radioatividade à partir dos 25 minutos, tendo esses níveis atingido valores máximos até 3 horas após a administração, em ratos.

ANDRADE (1980), realizou estudo histológico e histofotométrico em tecidos de granulação de ratos em condições normais e sob a ação de drogas anti-inflamatórias, administradas intraperitonealmente, entre elas a tripsina. Es

tudou o desenvolvimento do referido tecido aos 7, 14, 21 e 28 dias. Nesse trabalho o autor sugeriu que a tripsina, interferiu positivamente no processo de reparação tecidual, favorecendo a síntese de colágeno.

BARROS (1989), trabalhando com as enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina e com o paracetamol, administrados intraperitonealmente, em ratos, mostrou que tanto as enzimas proteolíticas quanto o paracetamol, interferiram na síntese de mucopolissacarídeos ácidos (glicosaminoglicanas) e colágeno, promovendo inibição do desenvolvimento e da maturação do tecido de granulação, induzido experimentalmente pelo implante subcutâneo dorsal de esponjas de PVC. As enzimas proteolíticas e o paracetamol reduziram a síntese desde o 5º até o 10º dia após o implante das esponjas, sendo que o efeito maior aconteceu no 10º dia.

Com relação à utilidade terapêutica das enzimas proteolíticas, FIGUEROLA (1957), relatou os resultados encontrados em 10 pacientes portadores de problemas crônicos respiratórios tratados com tripsina e quimotripsina administrados sob forma de comprimidos. Em todos os casos os resultados encontrados foram considerados satisfatórios pelo autor.

MARTIN (1960), obteve bons resultados em 75% dos casos de pacientes portadores de lesões ulcerativas, tromboflebitides obliterantes, arteriosclerose obliterante e eczemas, quando tratou-os com PARENZIME^R por via intramuscular.

Em uma avaliação terapêutica a respeito das enzimas proteolíticas, SHERRY & FLETCHER (1960), relataram que, em geral, elas estavam sendo utilizadas em quatro situações:

- 1) Tratamento de desordens do trato gastrointestinal, como no caso da pancreatite crônica;
- 2) Como agentes solubilizadores das coleções purulentas;
- 3) Como agente trombolítico, e
- 4) Como agente antiinflamatório.

Estudos clínicos realizados em 106 pacientes portadores de diversos processos inflamatórios como tromboflebitides, celulites, conjuntivites e hematomas pós-operatórios, levaram BECK e colab. (1960) a comprovar a marcante ação antiinflamatória da quimotripsina administrada parenteralmente (IM), em mais de 74% dos casos estudados.

Com o objetivo de estudar aderências pleurais experimentalmente, em cães, VELAZQUEZ e colab. (1963), administrando as enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina, verificaram menor quantidade de aderências, de edema e de fibrina no tecido de cicatrização, quando fizeram a comparação com o grupo de animais controles que não receberam tratamento com as enzimas, não tendo sido observado também, nenhuma alteração no material de sutura utilizado.

STUTEVILLE (1964), estudando a participação das enzimas proteolíticas pancreáticas na resolução de hema

tomas, em pacientes, mostrou que essas enzimas foram mais efetivas que as de origem vegetal e que os corticosteróides, às 24 horas e aos 7, 14 e 21 dias após o trauma.

A recuperação de pacientes submetidos a intervenções cirúrgicas sempre mereceu atenção especial dos cirurgiões. Os tecidos e órgãos submetidos a esse tipo de tratamento, tem seus cursos normais de recuperação sujeitos a muitas interferências. O processo inflamatório consequente a agressão é muitas vezes, por si só, fator de retardo da cicatrização e cura. Para esses casos as enzimas proteolíticas também encontraram aplicabilidade.

ATHIE e colab. (1965), trataram de 350 enfermos de ambos os sexos, cujas idades variaram de 5 a 59 anos, que se submeteram aos mais variados tipos de cirurgia. Os resultados observados mostraram que a administração das enzimas proteolíticas de origem pancreática, seja por via oral, seja por via parenteral, profilaticamente ou após a intervenção cirúrgica, determinaram importante redução na frequência de ocorrências comuns que sucedem às cirurgias.

Nessa mesma linha encontramos trabalhos em que foram obtidos resultados semelhantes, como o de REYES e colab. (1967), que utilizaram tripsina e quimotripsina no tratamento de pacientes submetidos a cirurgias ortopédicas, ACOSTA (1969), que também utilizou enzimas proteolíticas, porém associadas com paracetamol, em cirurgias reconstrutivas e funcionais do nariz, e RANGEL (1970), que tratou pacientes que se submeteram a cirurgia otorrinolaringológica com PARENZIME ANALGÉSICO^R.

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

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

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

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

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

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

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

- 1) níveis significativamente mais elevados de

ampicilina no tecido amigdalino, 1 e 1 e 1/2 hora após ad ministração oral;

2) "índices de penetrabilidade" de ampicilina no tecido amigdalino, significativamente maiores nos horá rios de 1 hora e 1 hora e 1/2 após a administração.

REKKANDT (1974), estudou a atividade da oleandom icina, estreptomicina, neomicina, clortetraciclina, eritrom icina, penicilina e polimixina, associadas à tripsina e à pepsina. As enzimas foram adicionadas ao antibiótico em solução tampão, na concentração de 1.000 UP/ml, à temperatu ra de 35°C. Solução sem enzimas proteolíticas foi usada co mo controle. A atividade do antibiótico foi determinada a través da difusão em ágar. Os resultados mostraram que as enzimas não interferem na atividade antimicrobiana de quaisquer antibióticos estudados.

Outros pesquisadores como FUKUDA e colab. (1978), empregaram a associação de ampicilina com as enzi mas proteolíticas quimotripsina e tripsina, no tratamen to de 31 pacientes portadores de infecção otorrinolaringolô gica, através de administração oral. O tratamento, foi con siderado eficaz em 61,3% dos pacientes e parcialmente efi caz em 35,5%, totalizando 96,8% de resultados favoráveis.

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

também na eliminação renal do mesmo.

FAROUK (1982), isolou cinco espécies de bacterias que individualmente foram incubadas em soluções salinas contendo tripsina e quimotripsina, em três diferentes concentrações, durante 1 hora. As enzimas proteolíticas mostraram ter atividade bactericida mais sobre as bactérias gran-negativas do que sobre as gran-positivas e, ainda, uma atividade enzimática letal, dose dependente.

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

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

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

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

Fazendo uso do fracionamento eletroforético, em papel, JACOBSSON (1953), confirmou as hipóteses anteriores mostrando a existência de dois diferentes inibidores de

tripsina no sôro humano, sendo que um dos inibidores se mo
ve como α_1 e o outro se move como α_2 globulinas.

LASKOWSKI e LASKOWSKI, Jr. (1954), em um tra
balho, onde os autores reúnem uma série de experimentos ,
com o objetivo de aumentar o nosso conhecimento sobre a o
corrência natural de inibidores da tripsina, descrevem que
KUNITZ e NORTHROP (1936), já tinham observado que, inibido
res pancreáticos de tripsina também inibiam a quimotrip-
sina, e , ainda, que o complexo formado entre a quimo
tripsina e o inibidor da tripsina é altamente dissociável ,
quando comparado com o complexo formado entre a tripsina e
a tripsina inibidora.

A dificuldade em se determinar, em valores
absolutos, a quantidade de sôro que inibe uma determinada
concentração de tripsina, levou HOMER e colab. (1960), a
proporem um método para mensurar a capacidade de sôro em
inibir a tripsina. O método proposto utiliza caseína marca
da com ^{131}I , como substrato. A capacidade tripsina inibido
ra do sôro de 103 doadores de sangue, membros do peçoal
de laboratório, mostrou que 0,87 mg de tripsina é inibida
por 1 ml de sôro. E ainda, a capacidade de inibir a tripsi
na, é encontrada nos sôros de pacientes portadores de anoma
lidades do pâncreas, principalmente.

ROBINSON e colab. (1981), puderam medir a ati
vidade inibidora da alfa-1-antitripsina e alfa-2-macroglobu
linas, presentes na artrite reumatóide do joelho de pacien
tes. Nestes casos foram observados níveis de alfa-1-anti-
tripsina e alfa-2-macroglobulina, no líquido sinovial, sen

sivelmente mais elevado nos pacientes portadores de inflamações das articulações, quando comparados com o grupo controle.

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

PEREIRA e PADOVAN (1968), comprovaram em seu trabalho, que a associação entre as enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina e o paracetamol foi mais eficiente que as enzimas ou o paracetamol administrados isoladamente, em diferentes intervenções cirúrgicas odontológicas.

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

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

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

Como pudemos ver, o uso terapêutico das enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina tem sido bastante frequente. Entretanto, as dúvidas existentes sobre sua importância como anti-inflamatório também existem. Essas razões nos levaram a realizar este trabalho no sentido de trazer alguma contribuição relativa ao esclarecimento desses questionamentos.

CAPÍTULO II

1. PROPOSIÇÃO DO TRABALHO

Pelo exposto pretendemos utilizar as enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina isoladamente e associadas ao paracetamol, por via oral, em ratos, com os seguintes objetivos:

1) Analisar as possíveis interferências das citadas enzimas proteolíticas e do paracetamol, no desenvolvimento do tecido de granulação, através de cortes histológicos;

2) Verificar, com o auxílio da histofotometria, se as referidas enzimas proteolíticas e o paracetamol, alteram a síntese de mucopolissacarídeos ácidos, quando administradas por via oral.

CAPÍTULO III

1. MATERIAIS E MÉTODOS

1.1. MATERIAIS

1.1.1. ANIMAIS UTILIZADOS

As experiências foram realizadas em oitenta (80) ratos (Rattus norvegicus - variedade albinus), da linhagem Wistar, machos, adultos jovens (60 dias), S.P.F., pesando entre 152 e 179 gramas, fornecidos pelo Centro de Bioterismo da Unicamp.

Os animais foram selecionados aleatoriamente e, após desmamados, alimentados com ração balanceada marca Ceres, de composição especial para criação de ratos, e receberam água "ad libitum".

Atingida a idade desejada, os animais foram submetidos aos procedimentos experimentais no Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas.

1.1.2. DISCOS DE PVC

Foram recortados discos de esponjas de policlorovinil (PVC), com 3 mm de altura x 5 mm de diâmetro, cada um deles, os quais foram utilizados para induzir a formação dos tecidos de granulação.

1.1.3. DROGAS UTILIZADAS

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

B) Parenzyme Analgésico^R - Solução aquosa preparada a 316,92 UP de tripsina, 63,30 UP de alfa-quimotripsina e 2,31 mg de paracetamol (n-acetil-aminofenol) por mililitro. Laboratório MERREL.

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

D) Éter Sulfúrico. MIYAKO do Brasil, Indústria e Comércio Ltda.

E) Providine - tintura 1%. DARROW Laboratórios S/A.

F) Solução de NaCl à 0,9%.

1.1.4. MATERIAL CIRÚRGICO

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

1.2. MÉTODOS

1.2.1. OBTENÇÃO DO TECIDO DE GRANULAÇÃO

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

1.2.2. IMPLANTE DAS ESPONJAS DE PVC

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

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

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

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

Todos estes procedimentos foram conduzidos sob rigorosas condições de assepsia.

1.2.3. ADMINISTRAÇÃO DE DROGAS

Os animais tratados receberam as drogas por via oral, através de intubação traqueal com sonda de PVC acoplada à agulha hipodérmica.

1.2.4. RETIRADA DOS TECIDOS DE GRANULAÇÃO

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

Para cada um dos períodos citados, dezesseis (16) animais foram anestesiados com éter sulfúrico, e os tecidos de granulação foram cuidadosamente retirados, colocados sobre vidros de relógio e postos para resfriar. Ao final deste procedimento os animais ficaram expostos à inalação de éter sulfúrico até o óbito. Após o resfriamento, com o auxílio de uma lâmina, os tecidos foram cortados no sentido de seu diâmetro e, imediatamente após, mergulhados em solução de formol a 10%, tamponado, durante vinte e quatro (24) horas, à temperatura ambiente.

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

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

na.

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

1.2.6. TÉCNICA HISTOFOTOMÉTRICA PARA ESTUDO DA SÍN
TESE DE MUCOPOLISSACARÍDEOS ÁCIDOS (GLICOSA
MINOGLICANAS)

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

Com a finalidade de se obter uma evidencia
ção histoquímica dos compostos mucopolissacarídeos ácidos , foi empregada a técnica de Reação Metacromática do Azul de Toluidina, pH 4,0, segundo LISON (1960). Uma vez prontas , as lâminas foram montadas em meio sintético (Bálsamo do Ca
nadá, CAEDAX, E. MERCK, DARMSTAD) e levadas ao histofotôme
tro (microscope PHOTOMETER - ZEISS 01), utilizando-se a objetiva de quarenta (40) aumentos e luz monocrática, com comprimento de onda de quinhentos e quarenta (540) milimi
crons, como indicado por PEARSE (1968).

Todos os pontos do tecido de granulação fo
ram colocados sob medida, realizando-se um total de sessen
ta (60) medidas, em absorvância para cada lâmina examinada. Cada lâmina continha tecido de granulação de dois (2) ani
mais e portanto, foram feitas trinta (30) leituras por ani

mal de cada grupo, para cada dia do período de evolução do tecido de granulação.

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

2. SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

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

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

Todas as vezes em que se procedeu à administração das drogas os animais foram anestesiados com éter sulfúrico.

2.1. GRUPO CONTROLE

Os vinte (20) animais que constituíram este grupo, receberam solução de NaCl a 0,9%, por via oral, tendo o grupo sido identificado com a sigla C.

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

2.1.1. SUB-GRUPO C-5

Constituído de quatro (4) animais, os quais, no segundo (2º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber, de oito (8) em oito (8) horas até o quinto (5º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, um (1) mi

lilitro de solução salina, por via oral.

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

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

2.1.2. SUB-GRUPO C-10

Constituído de quatro (4) animais, os quais, do sétimo (7º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber, de oito (8) em oito (8) horas, até o décimo (10º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, um (1) mililitro de solução salina, por via oral. Posteriormente seus tecidos de granulação foram retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas a reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

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

2.1.3. SUB-GRUPO C-14

Constituído de quatro (4) animais, os quais, no décimo primeiro (11º) dia após o implante das esponjas, começaram receber, de oito (8) em oito (8) horas, até o décimo quarto (14º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, um (1) mililitro de solução salina, por via oral. Posteriormente seus tecidos de granulação foram retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatolôgicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas a reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

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

2.1.4. SUB-GRUPO C-21

Constituído de quatro (4) animais, os quais, no décimo oitavo (18º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber, de oito (8) em oito (8) horas, até o vigésimo primeiro (21º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, um (1) mililitro de solução salina, por via oral. Posteriormente seus tecidos de granulação foram retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

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

2.1.5. SUB-GRUPO C-28

Constituído de quatro (4) animais, os quais, no vigésimo quinto (25º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber, de oito (8) em oito (8) horas, até o vigésimo oitavo (28º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, um (1) mililitro de solução salina, por via oral. Posteriormente seus tecidos de granulação foram retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

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

2.2. GRUPO DE ANIMAIS TRATADOS

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

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

que recebeu Eraldor^R, foi identificado com a sigla ER.

2.2.1. GRUPO PA

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

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

2.2.1.1. SUB-GRUPO PA-5

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

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

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

2.2.1.2. SUB-GRUPO PA-10

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

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

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

2.2.1.3. SUB-GRUPO PA-14

Constituído de quatro (4) animais , os quais, do décimo primeiro (11º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o décimo quarto (14º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de Parenzyme Analgésico^R, por via oral.

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

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

2.2.1.4 SUB-GRUPO PA-21

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

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

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

2.2.1.5. SUB-GRUPO PA-28

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

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

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

2.2.2. GRUPO P

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

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

2.2.2.1. SUB-GRUPO P-5

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

No quinto (5º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e enviados para a confecção de oito (8) lâminas histopatológicas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina

e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofotométrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

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

2.2.2.2. SUB-GRUPO P-10

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

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

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

2.2.2.3. SUB-GRUPO P-14

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

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

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

2.2.2.4. SUB-GRUPO P-21

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

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

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

2.2.2.5. SUB-GRUPO P-28

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

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

Os resultados histofotométricos for necidos pela reação de metacromasia, assim como os aspectos

morfológicos evidenciados pela coloração de Hematoxilina-Eosina, foram comparados com o grupo Controle correspondente ao vigésimo oitavo (28º) dia após o implante.

2.2.3. GRUPO ER

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

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

2.2.3.1. SUB-GRUPO ER-5

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

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

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

2.2.3.2. SUB-GRUPO ER-10

Constituído de quatro (4) animais , os quais, do sétimo (7º) dia após o implante das esponjas , começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o dé cimo (10º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação , doses de Eraldor^R, por via oral.

No décimo (10º) dia os animais fo ram anestesiados, os tecidos de granulação retirados e en viados para a confecção de oito (8) lâminas histopatolôgi cas, sendo duas (2) lâminas para a coloração de Hematoxilina-Eosina e seis (6) lâminas destinadas à reação de metacromasia, com Azul de Toluidina pH 4,0, para estudo histofoto métrico da síntese de mucopolissacarídeos ácidos.

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

2.2.3.3. SUB-GRUPO ER-14

Constituído de quatro (4) animais , os quais, do décimo primeiro (11º) dia após o implante das esponjas, começaram a receber de oito (8) em oito (8) horas até o décimo quarto (14º) dia de desenvolvimento do tecido de granulação, doses de Eraldor^R, por via oral.

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

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

2.2.3.4. SUB-GRUPO ER-21

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

No vigésimo primeiro (21º) dia os animais foram anestesiados, os tecidos de granulação retira

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

2.2.3.5. SUB-GRUPO ER-28

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

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

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

CAPÍTULO IV

1. RESULTADOS

1.1. COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA-EOSINA

À partir da implantação da esponja de PVC, i nicia-se a resposta orgânica de defesa contra o corpo estra nho. O processo evolui com o passar do tempo assumindo ca racterísticas próprias, bem definidas, que nos permitem ava liar se está havendo alteração da referida evolução, quando se administra drogas de ação antinflamatória.

Em resposta imediata à agressão fundamental mente ocorre a vaso-dilatação e o aumento da permeabilidade vascular permitindo o extravasamento de líquidos plasmáti cos e células de defesa.

Inicia-se a proliferação de fibroblastos res ponsáveis pela síntese de fibras que organizam-se ao redor da esponja formando uma cápsula fibrosa.

À partir da cápsula fibrosa, caminhando no sentido de encontro à esponja, ocorre a proliferação de va sos sanguíneos e aumento da síntese de fibroblastos, que vão, com o passar do tempo, invadindo os espaços vazios da esponja, até que todos os espaços sejam preenchidos.

Esse processo proliferativo inicia-se por volta do 4º dia pós-injúria e evolui palativamente, atingin do o seu grau máximo por volta do 15º ao 20º dia. Posterior mente decai até o momento em que a análise histopatológica revela muito tecido fibroso e praticamente nenhum fibroblas to, o que é considerado como a fase final dessa cronologia

do desenvolvimento, momento em que se considera que o tecido de granulação está maduro.

Dentro dos períodos de análise estabelecidos para esse trabalho, e considerando os diversos grupos experimentais obtivemos os seguintes resultados:

PERÍODO DE 5 DIAS

GRUPO C - A análise do tecido de granulação desse grupo revela a presença da cápsula fibrosa que apresenta-se adelgada e tênue. O seu trajeto está inteiramente acompanhado de fibroblastos jovens, no lado correspondente à esponja. Observa-se, ainda, poucos vasos sanguíneos neo-formados e o aspecto de maior realce é a própria esponja com sua trama pouco invadida pelo tecido intercelular.

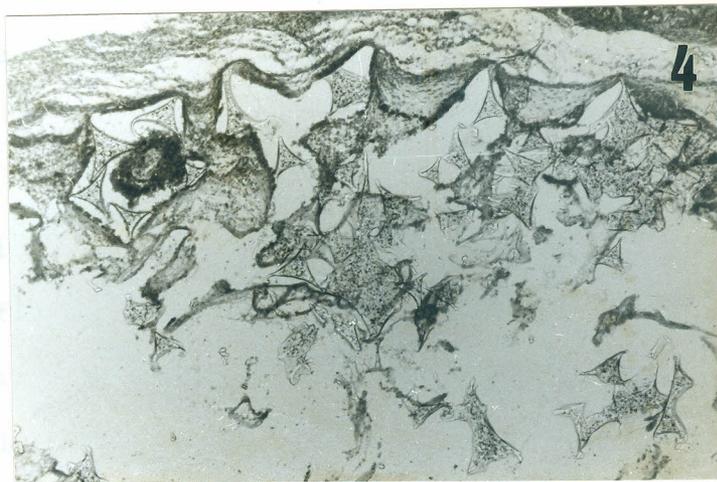
GRUPO P - Nesse grupo, cujos animais foram tratados com PARENZIME^R, observamos que a cápsula fibrosa apresenta-se descontínua em alguns pontos e que o tecido de granulação se mostra menor organizado que o apresentado pelo tecido de granulação dos animais do GRUPO C. O espaço correspondente à esponja apresenta-se preenchido pelo exsudato inflamatório.

GRUPO PA - O tecido de granulação apresentado por esse grupo, cujos animais foram tratados com PARENZIME ANALGÉSICO^R, apresenta-se menos organizado que o do GRUPO C, com cápsula fibrosa incipiente e descontínua em alguns pontos. A esponja apresenta-se preenchida com exsudato inflama

tório e menor celularidade.

GRUPO ER - A análise do tecido de granulação desse grupo, cujos animais foram tratados com ERALDOR^R, revela maior organização que os dos tecidos de granulação a apresentados pelos GRUPOS P e PA, assemelhando-se em celularidade, aos do GRUPO C. Entretanto a quantidade de tecido de granulação é maior do que a apresentada pelo GRUPO C. A cápsula fibrosa apresenta-se envolvendo a esponja.

Os aspectos gerais para esses grupos podem ser observados na Figura 1.



L. 664

FIGURA 1 - Vista geral dos tecidos de granulação dos dife-
rentes grupos, aos 5 dias de desenvolvimento .
(aumento original: 2,5 x 1,25 x 10). 1) GRUPO C,
2) GRUPO P, 3) GRUPO PA, 4) GRUPO ER.

PERÍODO DE 10 DIAS

GRUPO C - A análise do tecido de granulação desse grupo revela um aumento da substância intercelular fi brosa, em relação ao grupo de 5 dias, e fibroblastos jovens ocupando o tecido de granulação. Apresenta relativa organi zação com fibras colágenas, vasos neoformados e células me senquimais na trama da esponja. A cápsula fibrosa envolve totalmente a esponja de PVC e está bem evidente.

GRUPO P - Nesse grupo, cujos animais foram tratados com PARENZIME^R, observa-se que existe maior quanti dade de fibroblastos e de fibras no interior da esponja de PVC. Menor quantidade de vasos sanguíneos neoformados podem ser observados e a cápsula apresenta-se mais tênue do que a do GRUPO C.

GRUPO PA - O tecido de granulação apresentado por esse grupo, cujos animais foram tratados com PARENZIME ANALGÉSICO^R, apresenta-se menos organizado que o apresenta do pelo GRUPO C. A quantidade de vasos neoformados é ainda menor do que a do GRUPO P. A trama da esponja não está me nos preenchida por substância intercelular fibrosa e fibro blastos.

GRUPO ER - A análise do tecido de granulação desse grupo, cujos animais foram tratados com ERALDOR^R, re vela menos organização que o apresentado pelo GRUPO C. Apre senta menor quantidade de substância intercelular fibrosa e fibroblastos. A trama da esponja está menos preenchida pelo

tecido e a cápsula apresenta-se frágil.

Os aspectos gerais para esses grupos podem ser observados na Figura 2.

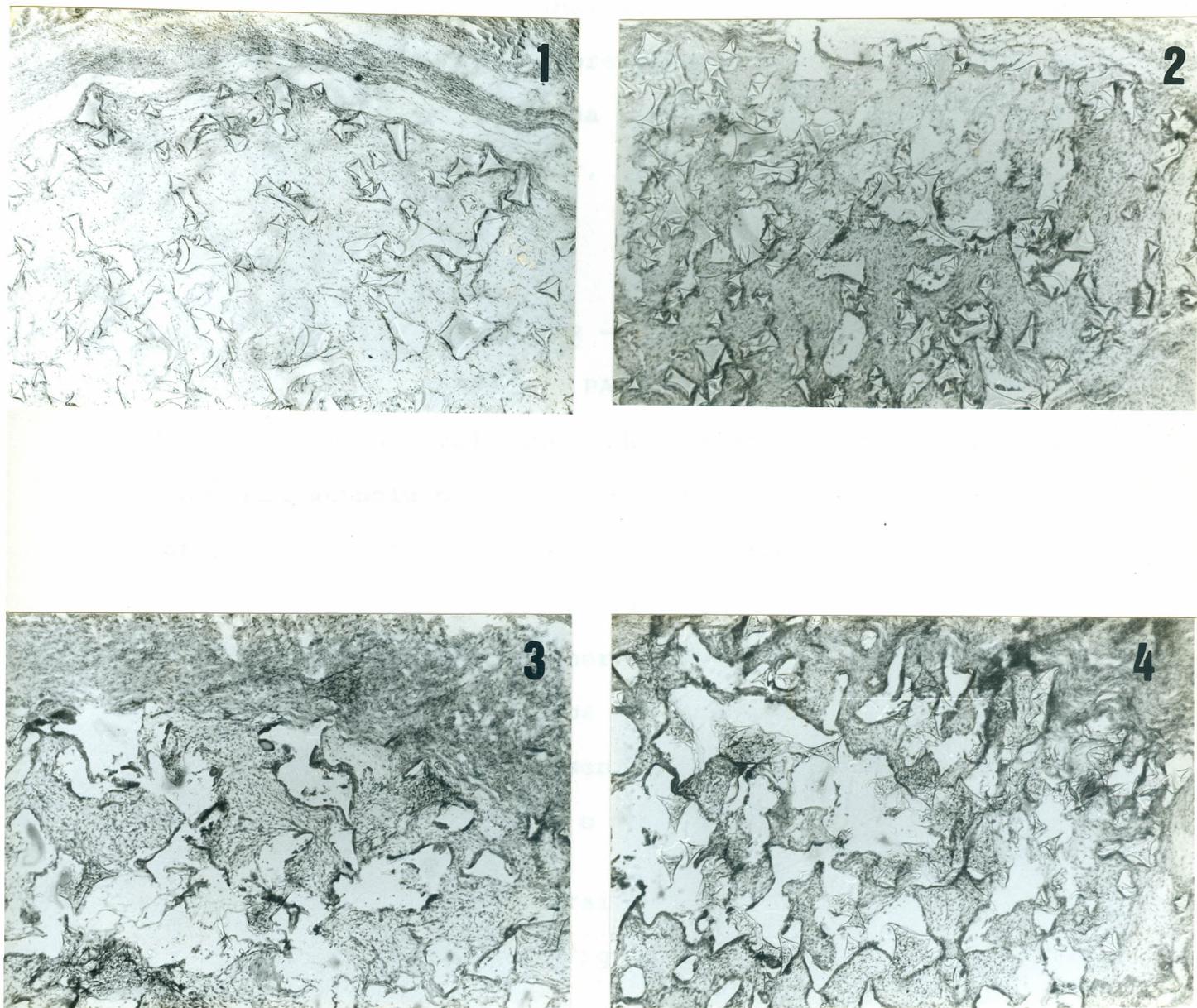


FIGURA 2 - Vista geral dos tecidos de granulação dos dife-
rentes grupos, aos 10 dias de desenvolvimento .
(aumento original: 2,5 x 1,25 x 10). 1) GRUPO C,
2) GRUPO P, 3) GRUPO PA, 4) GRUPO ER.

PERÍODO DE 14 DIAS

GRUPO C - A análise do tecido de granulação desse grupo revela que ele apresenta-se quantitativamente - bem evoluído com diminuição da celularidade e aumento de material fibroso intercelular, denotando caminhar para a organização.

GRUPO P, PA, ER - A comparação entre os grupos dos animais tratados com PARENZIME^R, PARENZIME ANALGÉSICO^R e ERALDOR^R, revela que o dos animais tratados com ERALDOR^R não atingiu o grau de maturidade do apresentado pelo grupo dos animais tratados com PARENZIME ANALGÉSICO^R. Esse último apresenta ligeiro retardo quando comparado com o grupo dos animais que receberam PARENZIME^R. Com exceção do grupo PARENZIME, os tecidos de granulação dos outros grupos de animais tratados apresentam-se inferior grau de maturidade quando comparados com o GRUPO C.

Os aspectos gerais descritos para esses grupos podem ser observados na Figura 3.

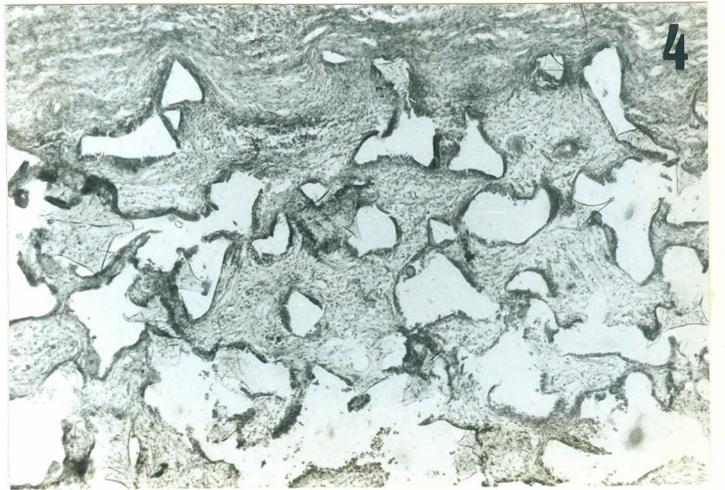
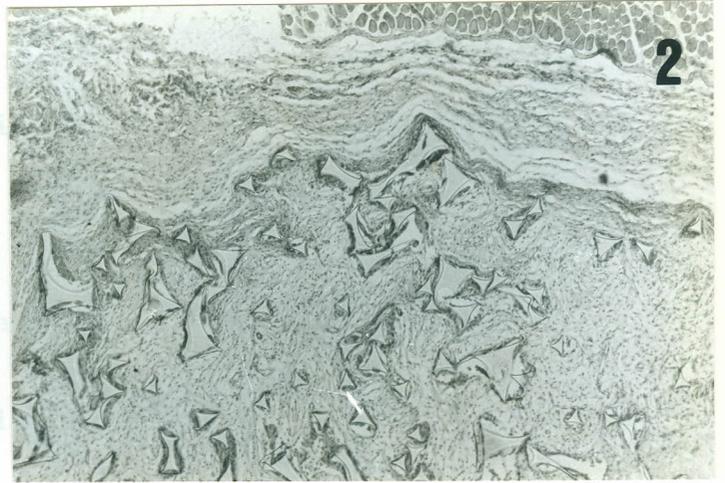


FIGURA 3 - Vista geral dos tecidos de granulação dos diferentes grupos, aos 14 dias de desenvolvimento. (aumento original: 2,5 x 1,25 x 10). 1) GRUPO C, 2) GRUPO P, 3) GRUPO PA, 4) GRUPO ER.

PERÍODO DE 21 DIAS

Nesse período verifica-se que a quantidade de fibras colágenas aumentou, quando comparada com o período de 14 dias. Nota-se uma diminuição de fibroblastos e grande quantidade de fibras colágenas direcionadas nos espaços da esponja de PVC. Esses aspectos podem ser observados nos tecidos de todos os grupos estudados (C, P, PA e ER).

Os aspectos gerais descritos acima podem ser observados na Figura 4.

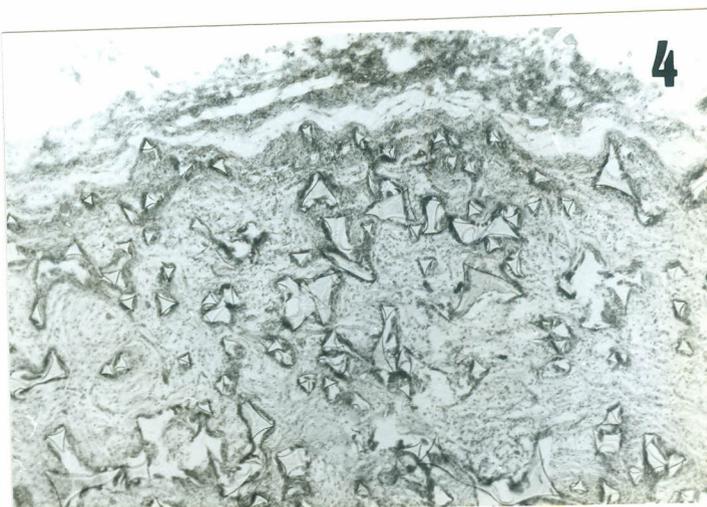
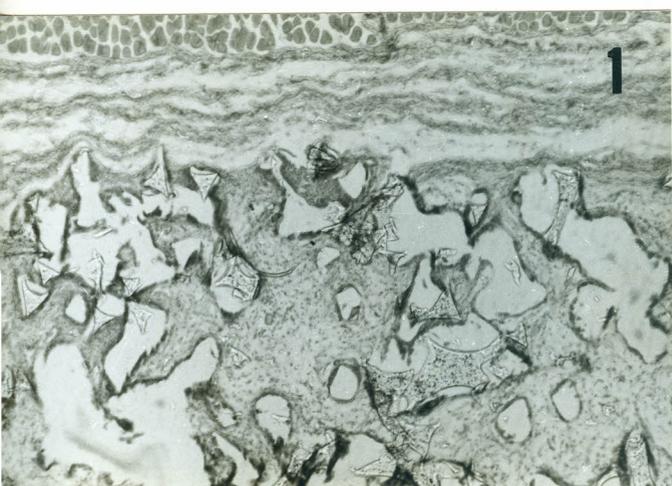


FIGURA 4 - Vista geral dos tecidos de granulação dos dife_{re}ntes grupos, aos 21 dias de desenvolvimento. (aumento original: 2,5 x 1,25 x 10). 1) GRUPO ER, 2) GRUPO P, 3) GRUPO PA, 4) GRUPO C.

PERÍODO DE 28 DIAS

No 28º dia após o implante das esponjas de PVC, os tecidos de granulação provenientes dos animais de todos os grupos estudados (C, P, PA e ER) encontram-se completamente desenvolvidos.

As fibras colágenas, formando feixes, ocupam todos os espaços entre as tramas da esponja de PVC, observando-se que a celularidade é escassa e não existem vasos neoformados.

As possíveis diferenças existentes entre os tecidos de granulação dos diferentes grupos são de caráter bastante moderado.

Os aspectos gerais descritos acima podem ser observados na Figura 5.

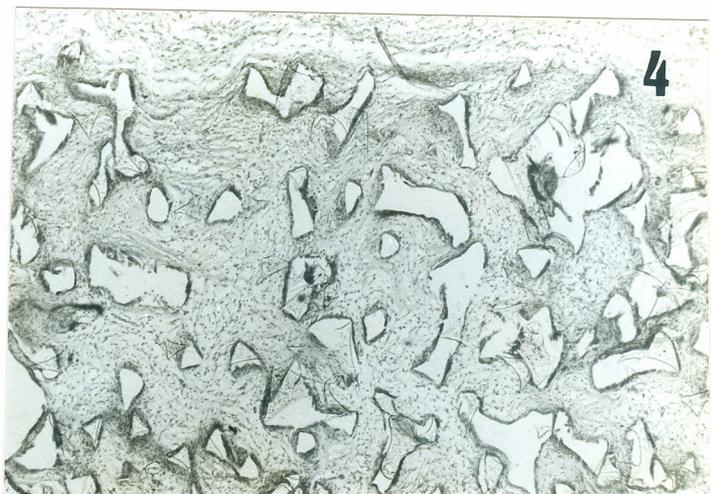
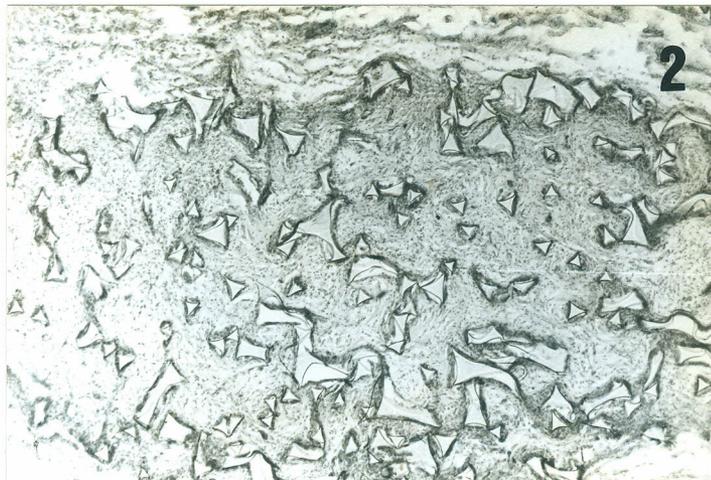


FIGURA 5 - Microfotografias obtidas dos tecidos de granulação dos diferentes grupos, aos 28 dias de desenvolvimento. (aumento original: 2,5 x 1,25 x 10).

1) GRUPO C, 2) GRUPO P, 3) GRUPO PA, 4) GRUPO ER.

1.2. TÉCNICA HISTOFOTOMÉTRICA PARA ESTUDO DA SÍNTESE DE
MUCOPOLISSACARÍDEOS ÁCIDOS - ANÁLISE ESTATÍSTICA.

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

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

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

PERÍODO DIAS	ANIMAL	CONTROLE	TRATADOS		
			PARENZIME ^R	PARENZIME ANALGÉSICO ^R	ERALDOR ^R
05	01	0,047	0,040	0,032	0,029
	02	0,051	0,035	0,033	0,033
	03	0,041	0,040	0,032	0,037
	04	0,045	0,036	0,029	0,034
10	01	0,065	0,059	0,039	0,043
	02	0,058	0,055	0,045	0,039
	03	0,058	0,055	0,039	0,043
	04	0,054	0,056	0,037	0,042
14	01	0,065	0,057	0,055	0,051
	02	0,064	0,052	0,055	0,049
	03	0,058	0,062	0,059	0,050
	04	0,066	0,058	0,060	0,052
21	01	0,052	0,050	0,044	0,037
	02	0,055	0,047	0,041	0,040
	03	0,054	0,052	0,039	0,039
	04	0,051	0,052	0,041	0,039
28	01	0,023	0,024	0,027	0,023
	02	0,031	0,026	0,024	0,025
	03	0,024	0,024	0,025	0,023
	04	0,023	0,024	0,022	0,022

Para saber se existe diferença entre os valores médios das medidas de absorvância dos Grupos Controle e Tratados com drogas, procedeu-se a Análise de Variância estudando-se o efeito de Grupo de desenvolvimento do tecido de granulação, do Período e da Interação Grupo - Período.

Os resultados dessa análise encontram-se na Tabela 2.

TABELA 2 - Análise de Variância

CAUSAS DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F
GRUPOS (G)	3	0,001751	0,000583	83,2857*
PERÍODOS (P)	4	0,009992	0,002498	356,8571*
INTERAÇÃO (G X P)	12	0,000712	0,000059	8,4285*
RESÍDUO	60	0,000418	0,000007	
TOTAL	79	0,012873		

(*) Os asterísticos indicam significância ao nível 5%.

A Análise de Variância mostrou que os efeitos de Grupo, Período e Interação Grupo x Período são significantes.

Como a interação Grupo x Período é significativa, a Análise de Variância deve ser modificada (conforme Tabela 3), pois indica que os grupos comportam de maneira diferente em cada um dos períodos estudados.

TABELA 3 - Análise de Variância (Efeito de Grupo dentro de cada Período).

CAUSAS DE VARIACÃO	GL	SQ	QM	F
PERÍODO (P)	4	0,009992	0,002498	356,8571*
GRUPO D. PERÍODO 1	3	0,000524	0,000174	24,8571
GRUPO D. PERÍODO 2	3	0,001132	0,000377	53,8571
GRUPO D. PERÍODO 3	3	0,000256	0,000085	12,1428
GRUPO D. PERÍODO 4	3	0,000542	0,000181	25,8571
GRUPO D. PERÍODO 5	3	0,000009	0,000003	0,4285
RESÍDUO	60	0,000418	0,000007	
TOTAL	79	0,012873		

A seguir procedemos ao teste de Tukey, ao nível de significância de 5%, considerando-se a diferença mínima significativa (d.m.s.) igual a 0,00494, entre as médias dos grupos dentro dos períodos 1, 2, 3 e 4. As médias podem ser encontradas na Tabela 4.

TABELA 4 - Médias das medidas histofotométricas, em absorvância, relativas às lâminas histopatológicas, para cada droga utilizada e em cada período do experimento.

PERÍODO DIAS	CONTROLE	D R O G A S		
		PARENZIME ^R	PARENZIME ANALGÉSICO ^R	ERALDOR ^R
05	0,04620	0,03797	0,03150	0,03310
10	0,05872	0,05645	0,03990	0,04190
14	0,06225	0,05727	0,05725	0,05097
21	0,05290	0,05015	0,04132	0,03900
28	0,02535	0,02430	0,02427	0,02325

Diferença mínima significativa = 0,00494

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

A) NO 5º DIA APÓS O IMPLANTE - (GRÁFICO 5)

1) Neste período, os tecidos de granulação dos animais do SUB-GRUPO C-5 apresentaram a média das medidas histofotométricas significativamente maior que a média das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais tratados, dos SUB-GRUPOS P-5, PA-5 e ER-5.

2) Os tecidos de granulação dos animais do SUB-GRUPO P-5 apresentaram a média das medidas histofotométricas significativamente maior que a média das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais do SUB-GRUPO PA-5.

3) Em média não houve diferença significativa entre as medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS P-5 e ER-5. O mesmo pode ser dito com relação aos SUB-GRUPOS PA-5 e ER-5.

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

1) Neste período, os tecidos de granulação dos animais do SUB-GRUPO C-10 apresentaram a média das medidas histofotométricas significativamente maior que a média das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS PA-10 e ER-10.

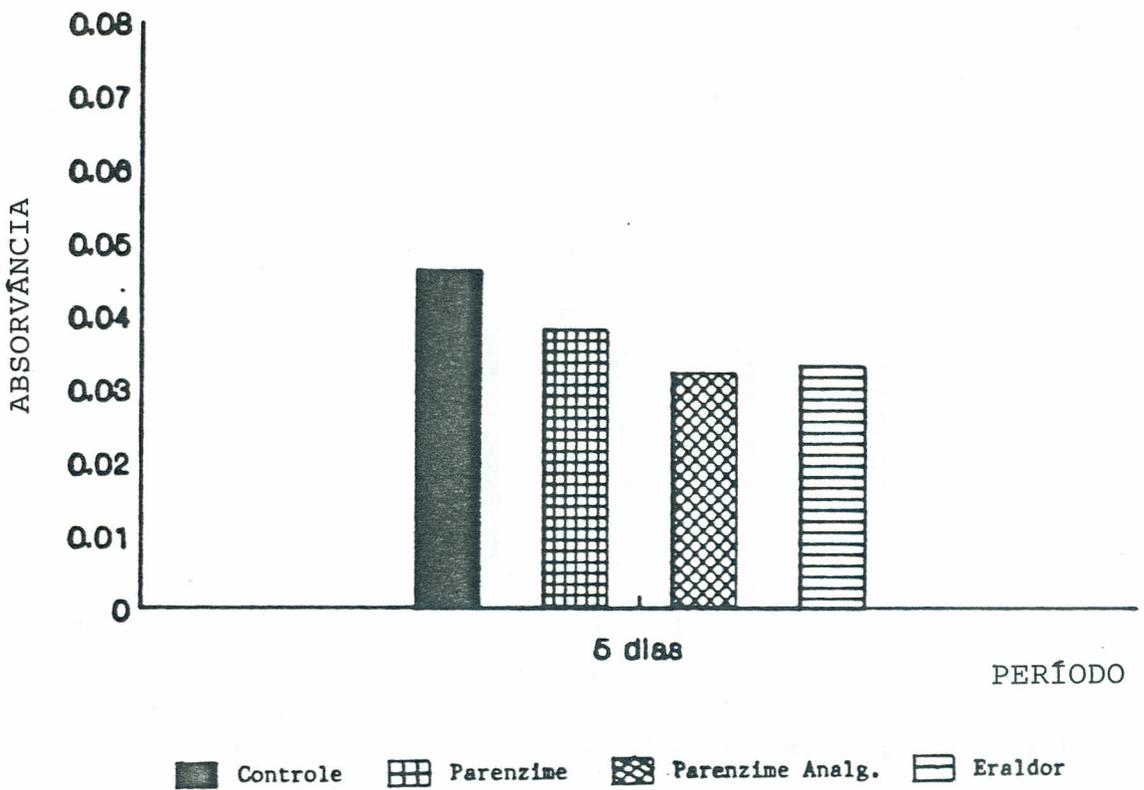


GRÁFICO 5 - Histograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, e os GRUPOS de animais CONTROLE e TRATADOS, no 5º dia de desenvolvimento do tecido de granulação.

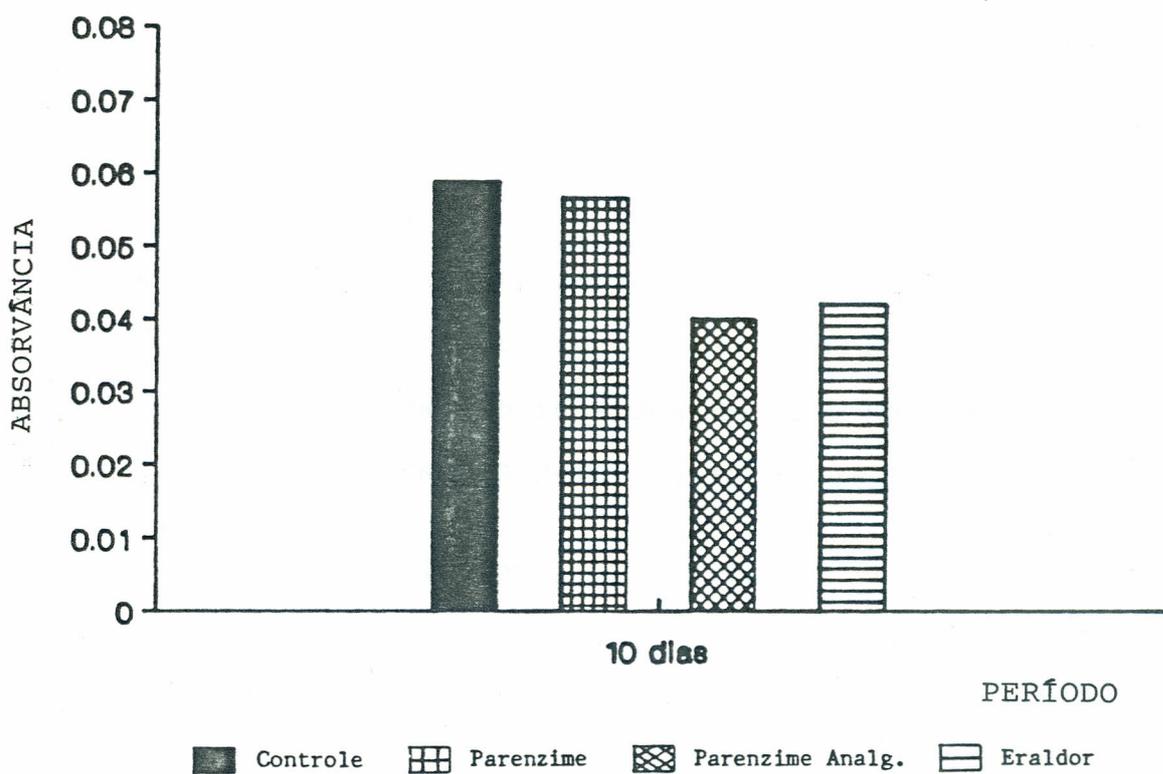


GRÁFICO 6 - Histograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, e os GRUPOS de animais CONTROLE e TRATADOS, no 10º dia de desenvolvimento do tecido de granulação.

2) Os tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPO P-10 apresentaram a média das medidas histofotométricas significativamente maior que a média das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS PA-10 e ER-10.

3) Em média não houve diferença significante entre as medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS C-10 e P-10. O mesmo pode ser dito com relação aos SUB-GRUPOS PA-10 e ER-10.

C) NO 14º DIA APÓS O IMPLANTE - (GRÁFICO 7)

1) Neste período, os tecidos de granulação dos animais do SUB-GRUPO C-14 apresentaram a média das medidas histofotométricas significativamente maior que a média das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS P-10, PA-10 e ER-10.

2) Em média não houve diferença significante entre as medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS P-14 e PA-14.

3) Em média as medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais do SUB-GRUPO ER-14 foram significamente menor que as médias das medidas histofotométricas obtidas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS C-14, P-14 e Er-14.

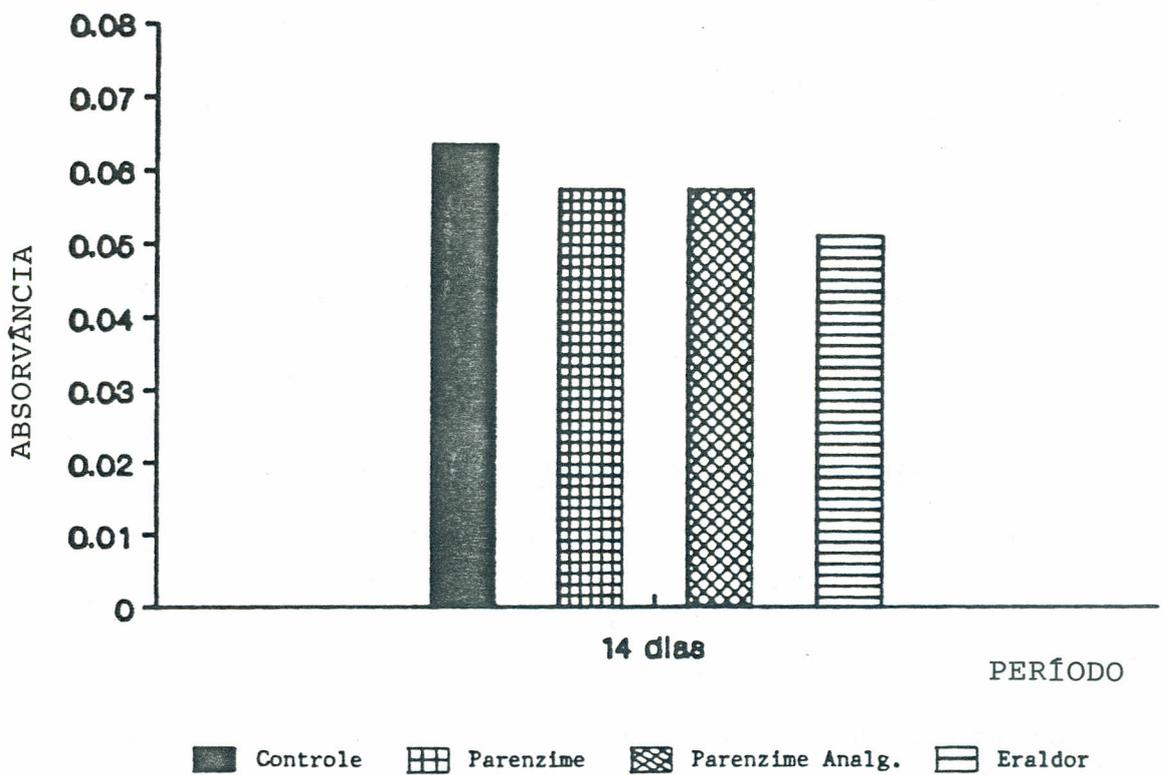


GRÁFICO 7 - Histograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, e os GRUPOS dos animais CONTROLE e TRATADOS, no 14º dia de desenvolvimento do tecido de granulação.

D) NO 21º DIA APÓS O IMPLANTE - (GRÁFICO 8)

1) Neste período, os tecidos de granulação dos animais do SUB-GRUPO C-21, apresentaram a média das me didas histofotométricas significativamente maior que as mê dias das medidas histofotométricas dos SUB-GRUPOS PA-21 e ER-21. O mesmo pode ser dito com relação ao SUB-GRUPO P-21.

2) Em média as medidas histofotométricas obti das dos tecidos de granulação dos animais do SUB-GRUPO C-21 não difere da média das medidas histofotométricas obtidas do tecido de granulação dos animais do SUB-GRUPO P-21. O mesmo pode ser dito com relação aos SUB-GRUPOS PA-21 e ER-21.

E) NO 28º DIA APÓS O IMPLANTE - (GRÁFICO 9)

1) Neste período não se observou diferenças significantes entre os GRUPOS de animais CONTROLE e TRATA DOS, com relação às médias das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação. A Análise de Variância para essa situação é Não Significante. A Tabela 3 mostra que o efeito de grupo dentro do período de 28 dias não é significativo ao nível de 5%.

Com a finalidade de melhor visualizar em con junto as observações oriundas da Análise Estatística efetu da e as observações feitas, relativas às medidas histofoto métricas da síntese de mucopolissacarídeos ácidos (glicosa minoglicanas), presentes nos tecidos de granulação dos ani mais controle e dos animais que foram submetidos a diferen

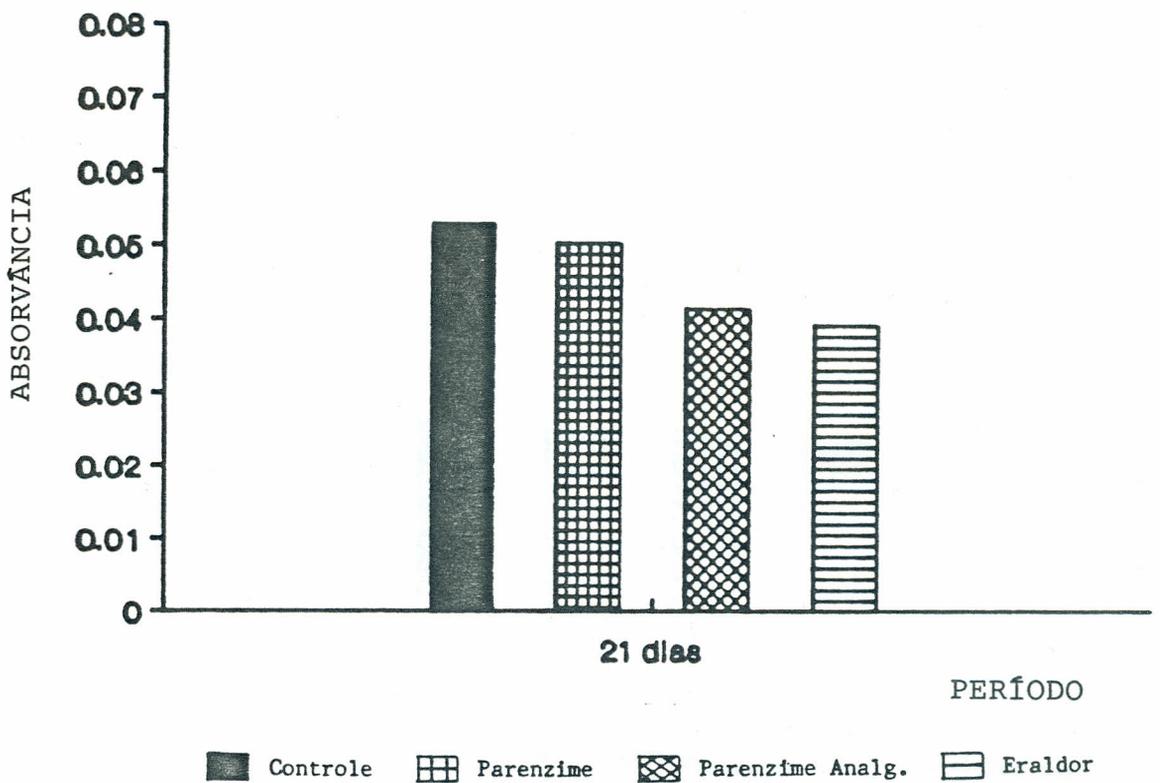


GRÁFICO 8 - Histograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, e os GRUPOS de animais CONTROLE e TRATADOS, no 21º dia de desenvolvimento do tecido de granulação.

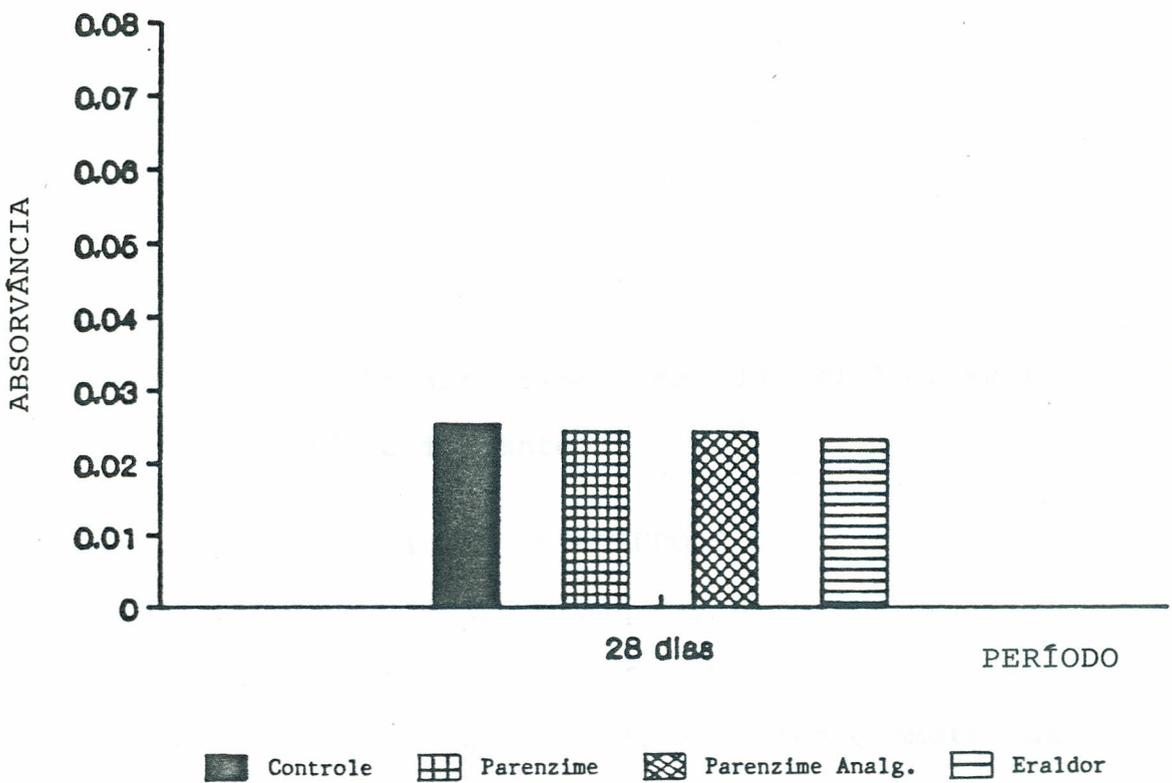


GRÁFICO 9 - Histograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, e os GRUPOS de animais CONTROLE e TRATADOS, no 28º dia de desenvolvimento do tecido de granulação.

tes drogas e examinados em diferentes períodos de desenvolvimento, traçou-se em Curvograma (Gráfico 10), onde se relacionou os valores médios entre animais (Tabela 4), das medidas expressas em Absorvância em função do Tempo de Sacrifício em dias.

Inicialmente fazendo a análise gráfica de cada grupo de animais, em relação aos períodos, observamos o seguinte:

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

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

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

3) Os animais do SUB-GRUPO C-14, sacrificados aos quatorze (14) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS C, sacrificados no 5º, 10º, 21º e 28º dia após o implante.

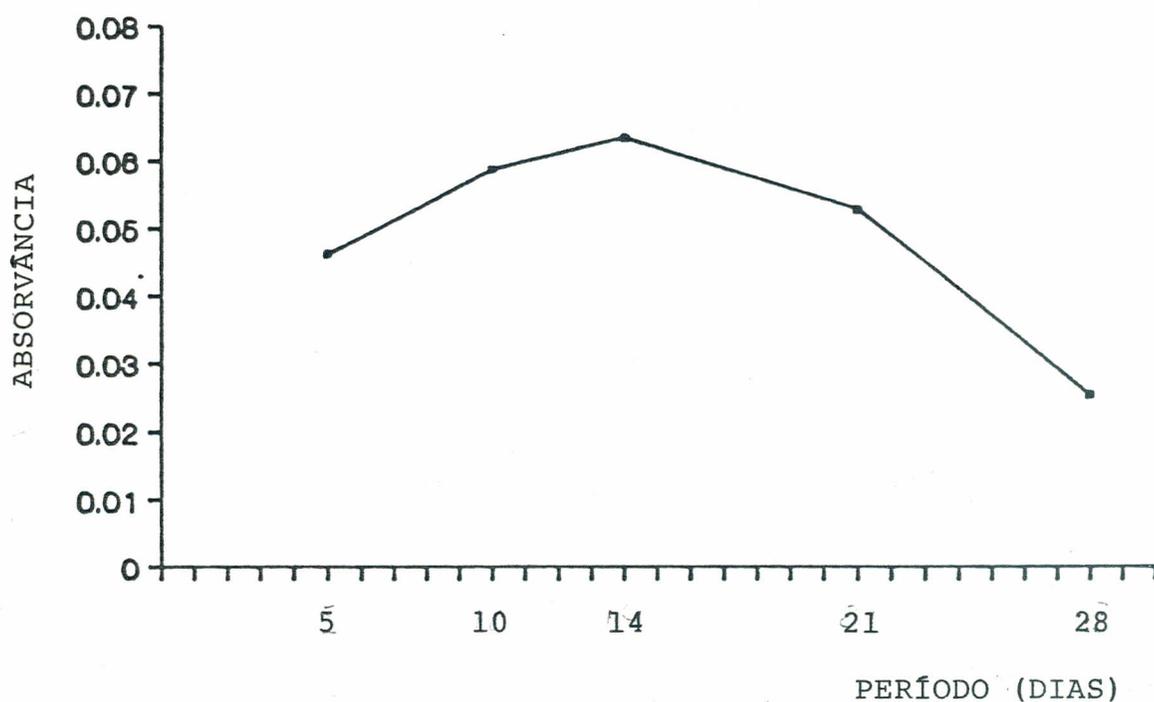


GRÁFICO 1 - Curvograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, em função do período de sacrifício, dos animais do GRUPO C (Controle).

4) Os animais do SUB-GRUPO C-21, sacrificados aos vinte e um (21) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS C, sacrificados no 5º e 28º dia após o implante.

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

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

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

3) Os animais do SUB-GRUPO P-14, sacrificados aos quatorze (14) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS P, sacrificados no 5º, 10º, 21º e 28º dia após o implante.

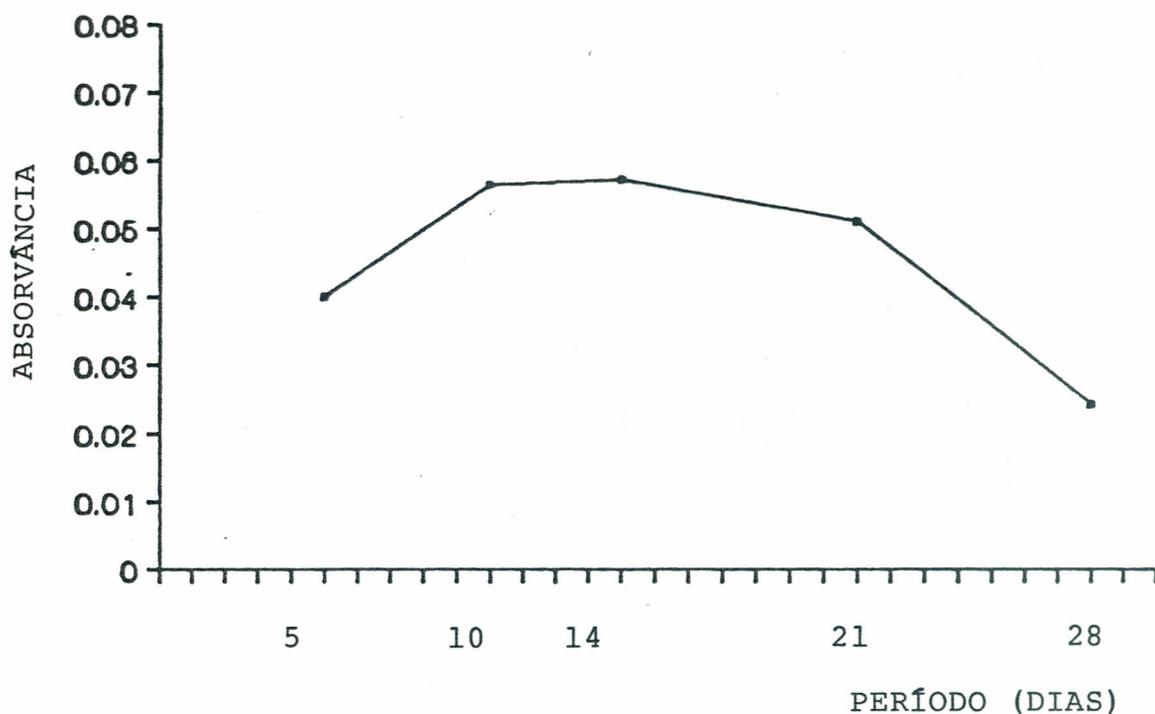


GRÁFICO 2 - Curvograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, em função do período de sacrifício, dos animais do GRUPO P (PARENZIME^R).

4) Os animais do SUB-GRUPO P-21, sacrificados aos vinte e um (21) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS P, sacrificados no 5º e 28º dia após o implante.

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

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

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

3) Os animais do SUB-GRUPO PA-14, sacrificados aos quatorze (14) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maiores que as médias das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS PA, sacrificados no 5º, 10º, 21º e 28º dia após o implante.

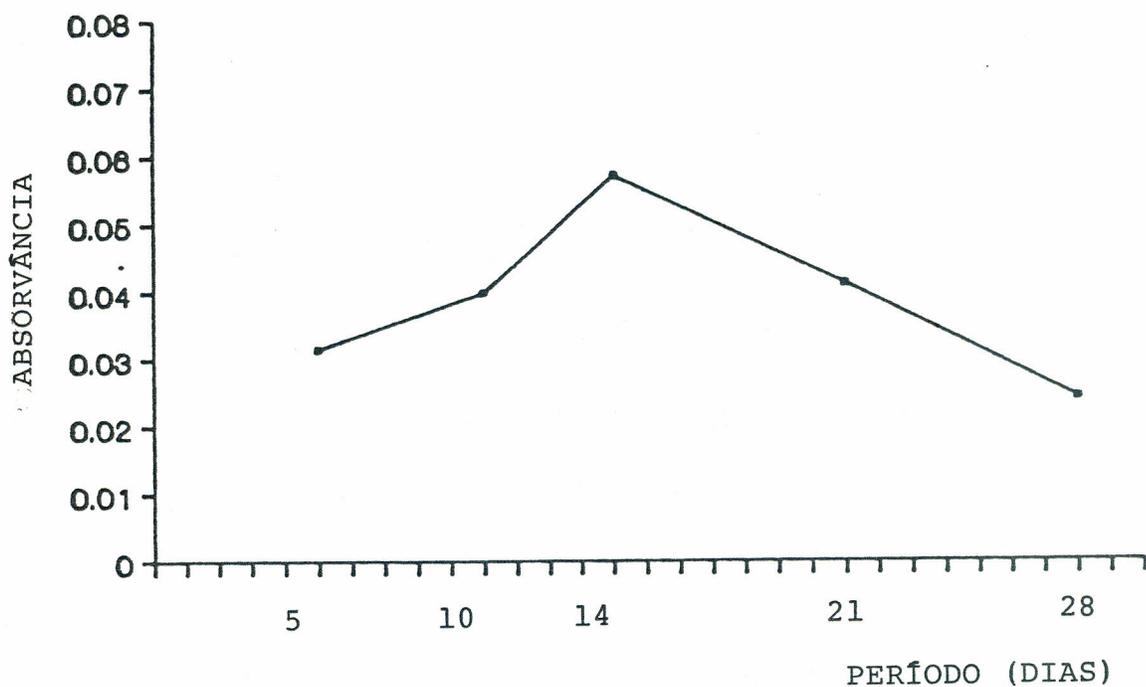


GRÁFICO 3 - Curvograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, em função do período de sacrifício, dos animais do GRUPO PA (PARENZIME ANALGÉSICO^R).

4) Os animais do SUB-GRUPO PA-28, sacrificados aos vinte e um (21) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS PA, sacrificados no 5º, 10º e 28º dia após o implante.

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

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

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

3) Os animais do SUB-GRUPO ER-14, sacrificados aos quatorze (14) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS ER, sacrificados no 5º, 10º e 28º dia após o implante.

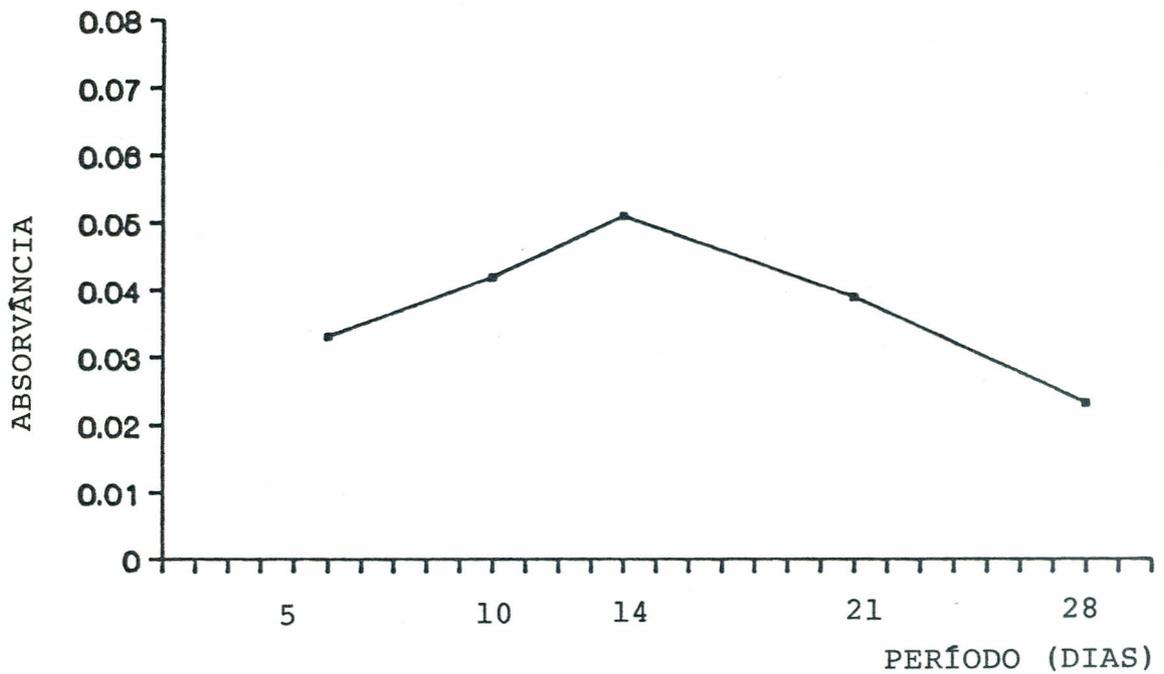


GRÁFICO 4 - Curvograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, em função do período de sacrifício, dos animais do GRUPO ER (ERALDOR^R).

4) Os animais do SUB-GRUPO ER-21, sacrificados aos vinte e um (21) dias após o implante das esponjas de PVC, tiveram a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação, maior que a média das medidas histofotométricas dos tecidos de granulação dos animais dos SUB-GRUPOS ER, sacrificados no 5º e 28º dia após o implante.

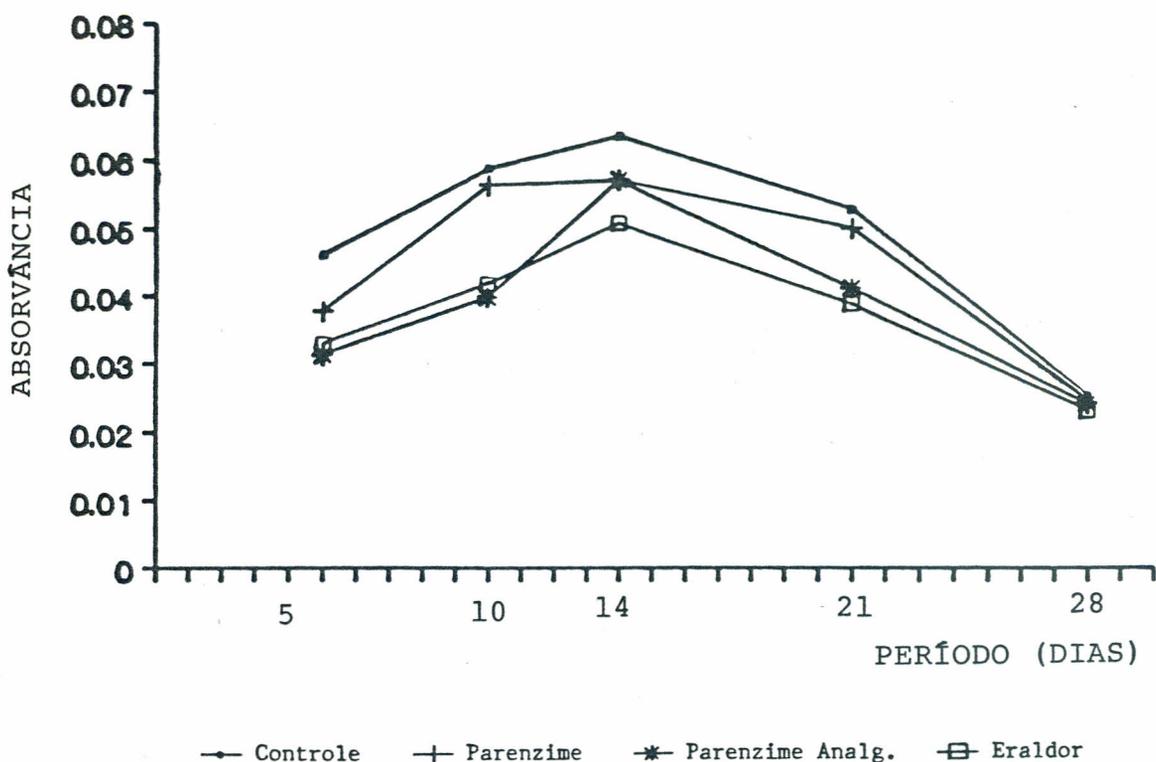


GRÁFICO 10 - Curvograma relacionando as médias das medidas histofotométricas, em absorvância de luz, e os GRUPOS de animais CONTROLE e TRATADOS, em função do período de sacrifício.

CAPÍTULO V

DISCUSSÃO

Quando se faz o implante de esponja de poli-clorovinil (PVC) estéril, subcutaneamente no rato, como corpo estranho essa esponja irá provocar uma reação orgânica localizada, de defesa, dando origem ao desenvolvimento do tecido de granulação. Os eventos precursores da formação do referido tecido originam-se do processo inflamatório que é desencadeado pela liberação de mediadores químicos responsáveis, inicialmente, pela dilatação e o aumento da permeabilidade vascular.

De acordo com VIZIOLI (1973), a formação do tecido de granulação tem início entre os 3º e 5º dias após o implante, através da migração de células fibrogenéticas e totipotentes originárias da cápsula fibrosa reacional. Essas células proliferam-se até por volta dos 15º e 20º dias, quando a fase proliferativa chega ao seu final, e se considera que o tecido de granulação está organizado e atingiu sua maturação.

Para avaliar o processo de desenvolvimento do tecido de granulação usamos o artifício de submeter o corte de tecido à reação metacromática com Azul de Toluidina, pH 4,0. A reação metacromática nos permite detectar, através da histofotometria, a densidade de mucopolissacarídeos ácidos (MPA) livres presentes no tecido. Os MPA constituem a substância cementante das fibrilas precursoras das fibras e dos feixes de colágeno. Quanto estão livres, presentes no tecido de granulação, os MPA tem condições de reagir com o corante metacromático Azul de Toluidina. Essas reações,

detectáveis através da histofotometria, nos permitem concluir que quanto maior a quantidade de MPA livres, uma maior quantidade de reações podem acontecer. A quantidade de luz que atravessa o tecido observado, e que é enviada ao histofotômetro, será proporcionalmente menor e, expressa em absorvância, nos fornece valores maiores.

Pelo fato das fibras serem oriundas da síntese pelos fibroblastos e de que a vascularização é sabidamente evento de fundamental participação no processo, fizemos também estudo histopatológico em cortes corados com HE, para a identificação dessas células e dos vasos sanguíneos que participam do tecido de granulação.

Com exceção da via de administração, a distribuição dos grupos de animais e os procedimentos experimentais deste trabalho, foram os mesmos encontrados no trabalho de BARROS (1989). Assim procedendo poderíamos ter um real parâmetro de comparação para analisar os resultados. Se eventualmente os resultados fossem diferentes, haveria forte suspeita de que a via de administração seria a variável mais importante a ser responsabilizada pelas alterações encontradas.

Pela literatura revista ficou claro que os trabalhos em que se utilizaram as enzimas proteolíticas como anti-inflamatório, são escassos e a maioria deles é de cunho clínico, geralmente de difícil avaliação por adotarem parâmetros considerados subjetivos. Muitos desses trabalhos mostram que os autores procuraram associar as enzimas proteolíticas com outros tipos de medicamentos, principalmente

antibióticos (SENECA & PEER, 1963; PERNOD & ARCHANE, 1965 ; ESCARZAGA, 1966; GODOY JR., 1973; REKKANDT, 1977; FUKUDA e colab., 1978; EDWARDS & CALVERT, 1980; MENON e colab, 1986). O propósito deste trabalho foi o de estudar as enzimas proteolíticas, tripsina e quimotripsina, administradas em conjunto e associadas ao paracetamol, utilizando os produtos comerciais Parenzime^R e Parenzime Analgésico^R. Foi feito também um grupo com Eraldor^R, para se avaliar os efeitos do paracetamol isoladamente. Todos os medicamentos foram usados nas doses terapêuticas recomendadas, como já foi dito anteriormente, por via oral.

A análise histopatológica dos animais do GRUPO C, cujo desenvolvimento do tecido de granulação não sofreu interferência de drogas, nos mostra que os fenômenos proliferativos do tecido de granulação aumentaram até o 14º dia de desenvolvimento, caindo posteriormente (FIGURAS 1, 2 e 3). As leituras histofotométricas, que podem ser encontradas na TABELA 1, revelaram que houve aumento da síntese de MPA até o 14º dia de desenvolvimento do tecido.

Quando fazemos a análise histopatológica dos tecidos provenientes dos animais tratados, verificamos que a síntese de MPA também aumentou até o 14º dia. Entretanto aconteceram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos, pelos resultados da análise das médias dos grupos obtidas das leituras histofotométricas, até o 21º dia . Assim, considerando a diferença mínima significante igual a 0,00494 o teste de Tukey, ao nível de significância de 5%, mostrou que no 5º dia, a média do GRUPO P é significantemente maior que a do GRUPO PA. Mostrou também que em média o

GRUPO P e o GRUPO ER não diferem, o mesmo acontecendo quando se considera os GRUPOS ER e PA. Todos os grupos de animais tratados apresentaram aumento da síntese de MPA estatisticamente significativa, porém em escala inferior, quando se compara com o grupo dos animais controle. Estes resultados estão de acordo com os de BARROS (1989), apesar de que em seu trabalho e efeito inibitório da síntese de MPA foi mais marcante. Vem ao encontro de citações de alguns autores que propuseram que as enzimas proteolíticas apresentam efeito antiinflamatório por despolimerizarem moléculas proteicas (INNERFIELD, 1952, 1953; VELAZQUEZ & colab., 1963) . Segundo INNERFIELD (1953), a ação terapêutica da tripsina , entre outras, seria a despolimerização das moléculas proteicas de grande peso molecular, e a redução da viscosidade dos fluidos encapsulados e dos produtos de secreção. Entretanto podemos afirmar que ainda não se esclareceu o modo de ação pelo qual as enzimas proteolíticas reduzem a quantidade de MPA da substância intercelular.

No 10º dia a análise dos cortes histopatológicos revela que no GRUPO P o tecido de granulação evoluiu mais que nos demais grupos. Aparece mais organizado, com a trama da esponja mais invadida por substância intercelular, fibras colágenas e celularidade. A diferença é menos acentuada quando se faz a comparação com o GRUPO C (FIGURA 2) . Analisando os resultados da histofotometria dentro desse período, verificamos que realmente o GRUPO P não diferiu significativamente do GRUPO C, mostrando que para esse período as enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina, contidas no Parenzime^R, não foram capazes de interferir na síntese

de MPA quando se compara com a síntese de MPA do GRUPO C. Esse resultado não coincide com o de BARROS (1989) que apresenta diminuição da síntese quando usou Parenzime^R ao seu grupo controle. Entretanto pode ter favorecido a síntese de MPA, como se depreende do trabalho realizado por ANDRADE (1980). Essa nossa afirmação prende-se ao fato de que o estudo histopatológico revelou maior organização do tecido de granulação, apresentando mais fibras colágenas e, portanto, menor quantidade de MPA livres. Os outros dois grupos de animais, tratados com Parenzime Analgésico^R e Eraldor^R, não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si mas sim quando comparados com o grupo de animais tratados com Parenzime^R e o grupo de animais controle, que não receberam tratamento medicamentoso, diferenças essas também encontradas por BARROS (1989).

Aos 14 dias de desenvolvimento do tecido de granulação, a análise dos cortes histopatológicos revela semelhança entre os cortes provenientes dos animais dos GRUPOS C e PA. No GRUPO P o tecido de granulação apresenta-se mais organizado, ocupando os espaços como que comprimindo a esponja de PVC. No GRUPO ER o tecido de granulação apresenta-se mais atrasado. Esses resultados podem ser observados na FIGURA 3. A análise das médias das medidas histofotométricas revelou que no GRUPO C a síntese de MPA foi significativamente maior que as médias de todos os outros grupos. Por outro lado, análise também revelou que o GRUPO ER apresentou maior inibição da síntese de MPA do que todos os outros grupos e que não houve diferença significativa entre as médias das leituras dos GRUPOS P e PA. Esses resultados

são diferentes dos encontrados por BARROS (1989). No seu trabalho o efeito inibitório sobre a síntese de MPA aconteceu apenas até o 10º dia de desenvolvimento do tecido de granulação. Embora concordemos quando o autor diz que o paracetamol inibiu a síntese de MPA. Os nossos resultados mostraram que esse fenômeno ocorreu até o 21º dia (GRÁFICO 10). Como nosso propósito foi de utilizar os medicamentos nas doses terapêuticas recomendadas, talvez esse efeito seja muito discreto para o processo inflamatório como um todo, pois a literatura mostra que o paracetamol somente apresenta efeitos antinflamatórios quando utilizado em doses maiores que as necessárias para produzir analgesia (GOODMAN & GILMAN, 1987).

No 21º dia de desenvolvimento do tecido de granulação, embora os resultados da análise histopatológica tenham mostrado que as diferenças morfológicas entre os grupos são pequenas (FIGURA 4), a estatística mostrou que o estudo histofotométrico apresentou diferenças entre os grupos. Em média os tecidos de granulação dos animais do GRUPO C não diferiu dos tecidos de granulação dos animais do GRUPO P, em quantidade de MPA. Porém ambos os grupos citados apresentaram as médias maiores que as médias dos GRUPOS PA e PC. Entre esses dois últimos grupos também não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias.

No 28º dia de desenvolvimento do tecido de granulação tanto a análise histopatológica (FIGURA 5), quando a histofotométrica (GRÁFICO 10), praticamente não revelaram diferenças. Portanto, neste período tanto para os ani

mais tratados como os animais do grupo controle, verifica mos o mesmo estágio de evolução e maturação do tecido de granulação. Obviamente, neste estágio de desenvolvimento do tecido de granulação a tripsina e a quimotripsina não inter teriram no seu desenvolvimento. Nesse período a síntese de MPA reduziu drasticamente mostrando que os MPA estão incor porados ao colágeno e portanto o número de reações metacro máticas foi menor dando leituras menores em absorvância . Esses resultados encontram suporte no trabalho de PECILE & colab. (1967). Esses autores induziram a formação de tecido de granulação em ratos e quando esses tecidos estavam amadu recidos, os animais foram tratados com tetraciclina marcada associada às enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina. Os resultados obtidos, quando comparados com o grupo de ani mais que receberam somente o antibiótico marcado, mostraram que as enzimas foram capazes de facilitar a absorção do an tibiótico no trato gastrointestinal, porém não foram capa zes de facilitar a passagem do antibiótico para o interior do tecido de granulação. Entretanto o trabalho de GODOY JR. (1973) mostra que as enzimas proteolíticas tripsina e quimo tripsina facilitam a passagem de ampicilina para o tecido a midalino inflamado, o que foi confirmado por MENON & co lab. (1986).

Gostaríamos de ressaltar que confirmamos os resultados de BARROS (1989), com relação aos efeitos do pa racetamol sobre a síntese de MPA. Entretanto, quando foi usado Parenzime Analgésico^R o seu efeito depressivo sobre a síntese de MPA foi menor. Isso porque histopatologicamente nos períodos de 5, 10, 14 e 21 dias os tecidos de granula

ção comparativamente estão mais desenvolvidos para esse grupo com relação ao grupo que tomou Eraldor^R. Esse dado é coerente porque a quantidade de paracetamol presente no Parenzime Analgésico^R é inferior à do Eraldor^R.

Com relação às enzimas tripsina e quimotripsina, quando foram administradas isoladamente, os resultados mostram que houve evolução mais rápida do tecido de granulação comprovada histopatologicamente (FIGURAS 1,2,3 e 4). Porém, quando foram tratados com Parenzime Analgésico^R esse fato não ocorreu. Como a quantidade de enzimas proteolíticas contida no Parenzime^R é igual à do Parenzime Analgésico^R, a nossa hipótese é de que esse fenômeno ocorreu por antagonismo entre as enzimas e o paracetamol, pois essa última droga faz parte da composição do Parenzime Analgésico^R.

Fazendo-se uma análise global, com esses resultados ficou demonstrada a influência da administração das enzimas proteolíticas por via oral, como era um dos seus propósitos.

Embora consideremos que a contribuição deste trabalho tenha sido importante para o esclarecimento das dúvidas sobre a validade do uso de medicamentos em cuja formulação existam enzimas proteolíticas, para tratamento de processos inflamatórios, ficam para esclarecimentos posteriores os mecanismos responsáveis pelos fenômenos observados.

CAPÍTULO VI

1. CONCLUSÕES

Dentro das condições experimentais em que foi realizado este trabalho e, de acordo com os resultados obtidos, podemos concluir que:

- As enzimas proteolíticas tripsina e quimotripsina administradas em doses terapêuticas, isoladamente, por via oral, interferiram favoravelmente na evolução do tecido de granulação, em ratos.
- O paracetamol, administrado em doses terapêuticas, por via oral, interferiu desfavoravelmente atrasando a evolução do tecido de granulação, em ratos.
- As enzimas proteolíticas antagonizaram parcialmente a interferência negativa do paracetamol sobre a evolução do tecido de granulação, em ratos.

CAPÍTULO VII

1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, F.D. Resultados de la investigación de enzimas an
tinflamatórias asociadas al acetaminofen, en cirurgia
reconstructiva y funcional de la nariz. Medicina, 46
(1069): 533-8, 1969.

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

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

BARROS, P.P. Estudo da influência da tripsina, quimotrip
sina e paracetamol, no desenvolvimento do tecido de gra
nulação, em ratos. Piracicaba, 1989. 94p. [Tese (Douto
ramento) - FOP/UNICAMP].

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

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

- BENTLEY, J.P. Rate of chondroitin sulfate formation in woundhealing. Ann. Surg., 165: 186-91, 1967.
- BOGNER, R.L.; EDELMAN, A.; MARTIN, G. In vivo observations with radioactive trypsin. Archs int. Pharmacodyn., 118 (1/2): 122-37, 1959.
- BORGO, E. Mistura enzimático-antibiótica em Odontologia - Primeiras observações. Hospital, 77(2): 649-60, fev. 1970.
- CAMUS, L. & GLEY, E. Action du sérum sanguin sur quelques ferments digestifs. Compt. rend. Soc. de biol., 49 (825), 1978.
- CIUBOTARIU, M. Tratamentul cu enzime al paradontitelos apicale acute si cronice. Stomatologia, 28(4): 271-6, 1981.
- COHEN, B.H.; LEWIS, L.A.; RESNIK, S.S. Wound healing: a brief review. Int. J. Derm., 14: 722-6, 1975.
- DE LAUNAY, A. & BAZIN, S. Reparation du tissue conjonctif. Archs Ophthal., 35: 115-26, 1975.
- EDWARDS, G. & CALVERT, R.T. The effect of proteolytic enzymes on the disposition of tetracycline. J. Pharm. Pharmac., 32: 404-7, 1980.

ESCÁRZAGA, E.T. Accion de las enzimas proteolíticas asociadas al cloranfenicol, en el tratamiento de infecciones en humanos causadas por bacterias susceptibles a Dicho antibiótico. Medicina, 46. mar. 1966.

FAROUK, A. Antibacterial activity of proteolytic enzymes. Int. J. pharm., 12: 295-8, 1982.

FEINMAN, J.; SHERMAN, J.; McMILLAN, D. Oral proteolytic enzymes (Pancreatic in traumatic dental surgery - A two-Part Double - Blind Study. N.Y. St. dent. J., 33: 336-41, June, 1967.

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

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

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

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

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

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

_____ ; ANGRIST, A.; SCHEARZ, A. Parenteral administration of trypsin. J. Am. Med. Ass., 152(7): 597-605, June, 1953.

JACOBSSON, K. Electrophoretic demonstration of two trypsin inhibitors in human blood serum. Scand. J. clin. Lab. Invest., 5: 97-8, 1953.

KABACOFF, B.L.; WOHLMAN, A.; UMHEY, M.; AVAKIAN, S. Absorption of chymotrypsin from the intestinal tract. Nature, 199(4895): 815, Aug., 1963.

KIESER, B.J. et alii. The effect of a proteolytic enzyme mixture (orenzyme-forte) on experimentally induced pulpitis. Oral Surg., Oral Med., Oral Path., 43: 300-5, 1977.

KUNITZ; M. & NORTHROP, J.H. Apud LASKOWSKI, M. & LASKOWSKI JR., M. Naturally occurring trypsin inhibitors. Adv. Protein Chem., 9: 203-42, 1936.

LANDSTEINER, K. Zur kenntnis der antifermentativen, lyts
chem und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und
der Lymphhe. Zbl. Bakt., 27(357), 1900.

LASKOWSKI, M. & LASKOWSKI JR., M. Naturally occurring
trypsin inhibitors. Adv. Protein Chem., 9: 203-42
1954.

Mc MINN, R.M.H. & PEACOCK JR., E.E. Studies on the biology
of collagen during wound healing. I. Rate of collagen
syntesis and deposition in cutaneous wounds of the rat .
Surgery, 64: 288-94, 1968.

MARTIN, G.J.; BRENDDEL, R.; BAILER, J.M. Absorption of
enzymes from the intestinal tract. Am. J. Pharm., 129
(6): 194-7, 1957.

MARTIN, H. Proteolytic enzymes in peditry. J. Am. Pedia
try Ass., 50(3), mar., 1960.

MENON, A.D. et alii. Estudo duplo-cego, comparativo, sobre
a disponibilidade sangünea e em tecido amigdalino, da
ampicilina trihidratada sob forma isolada e em combina
ção com tripsina e quimotripsina. Folha méd., 92(6):
407-10, jun., 1986.

MILLER, J.M.; ROBINSON, D.R.; WILLIARD, R.F. The reaction
between trypsin ¹³¹I and human blood. Expl. Méd. Surg.,
18: 348-51, 1960.

PEARSE; A.G.E. Histochemistry, Theoretical and Applied. 3. ed. London, Churchill, 1968. U. 1, p. 331.

PECILE, A.; TOSI, G.; FERRARIO, G.; VERONELLI, C. Effect of proteolytic enzymes on the absorption of Tetracycline Farmaco, 22(10): 583-9, 1967.

PEREIRA, G. & PADOVAN, G. Associação enzimático-analgésica em Odontologia. Hospital, 73(2): 655-61, fev., 1968.

PERNOD, J. & ARCHANE, M.D. Action sur bronchorrhée de l'association enzymes proteolytiques du pancreas et tetracycline. Therapie, 20: 721-9, 1965.

RANGEL, C.A. Enzimas anti-inflamatórias y Acetaminofen en cirurgia otorrinolaringológica. Medicina, 50(1085):253-6, 1970.

REKKANDT, S.A. Effect of chymotrypsin, trypsin and pepsin on activity of some antibiotics. Antibiotiki, 19(5) : 447-8, May, 1974.

REYES, S.H.; NORIEGA, R.R.; VIVERO, P.A. Enzimas pancreáticas anti-inflamatórias: aplicacion y uso practico en cirugía ortopedica. Medicina, 100: 82-92, feb., 1967.

ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. Patologia estrutural e funcional. 3. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1986. p. 39.

- ROBINSON, A.D. et alii. Antitrypsin activity and enzyme inhibitors in the rheumatoid joint. J. Rheumat., 8(4): 547-54, 1981.
- ROSS, R. The fibroblast and wound repair. Biol. Rev., 43: 51-96, 1968.
- SENECA, H. & PEER, P. Effect of chymotrypsin on the absorption of tetracycline from the intestinal tract. Antimicrob. Ag. Chemother., 657-61, 1963.
- SHERRY, S. & FLETCHER, A.P. Proteolytic enzymes: A therapeutic evaluation. Clin. Pharmac. Ther., 1(2): 202-26, Mar./Apr., 1960.
- STUTEVILLE, O.H. The effects of oral pancreatic proteolytic enzymes on hematoma resolution. Exhibit presented at Michigan - Academy of General Practice, Detroit, Michigan, November 11-12, 1964.
- VELÁZQUEZ, E.V.; ZEPEDA, J.G.; GALARZA, V.G. Acción de las enzimas proteolíticas sobre el material de sutura absorbible. Neumol. Cir. Torax, 24(4): 275-7, 1963.
- VIEIRA, F.P. Empleo de enzimas proteolíticas no tratamiento de otite média crônica exsudativa. Revta. bras. clin. Terap., 2(3): 97-8, 1973.
- VIZIOLI, M.R. Dynamics of fibrillar components in rat sponge induced granulation tissue. Acta anat., 85: 368-77, 1973.

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

APÊNDICE

MEDIDAS HISTOFOTOMÉTRICAS

1. ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE - PERÍODO: 5 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,052	0,035	0,030	0,041	0,046	0,032
	0,039	0,030	0,032	0,037	0,057	0,040
	0,026	0,026	0,053	0,040	0,094	0,046
	0,030	0,061	0,064	0,047	0,044	0,030
	0,034	0,077	0,087	0,092	0,050	0,046
02	0,051	0,021	0,039	0,064	0,063	0,067
	0,043	0,018	0,074	0,029	0,084	0,042
	0,076	0,058	0,079	0,075	0,009	0,027
	0,022	0,034	0,068	0,038	0,042	0,046
	0,048	0,052	0,032	0,081	0,038	0,068
03	0,050	0,054	0,043	0,053	0,033	0,047
	0,050	0,048	0,061	0,047	0,056	0,035
	0,054	0,070	0,064	0,054	0,045	0,044
	0,051	0,032	0,069	0,075	0,037	0,059
	0,028	0,038	0,064	0,043	0,032	0,028
04	0,021	0,062	0,020	0,014	0,033	0,026
	0,042	0,018	0,028	0,056	0,027	0,046
	0,040	0,052	0,062	0,071	0,088	0,052
	0,060	0,039	0,034	0,049	0,037	0,036
	0,081	0,062	0,069	0,039	0,055	0,037

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,027	0,047	0,034	0,045	0,038	0,025
	0,032	0,044	0,051	0,047	0,059	0,049
	0,062	0,029	0,067	0,056	0,037	0,012
	0,059	0,015	0,046	0,026	0,018	0,038
	0,029	0,038	0,032	0,040	0,060	0,043
02	0,036	0,021	0,032	0,030	0,034	0,018
	0,017	0,051	0,060	0,044	0,028	0,038
	0,036	0,048	0,031	0,055	0,029	0,029
	0,022	0,066	0,019	0,024	0,022	0,028
	0,018	0,022	0,047	0,068	0,024	0,054
03	0,061	0,019	0,021	0,019	0,052	0,041
	0,059	0,025	0,030	0,032	0,045	0,043
	0,046	0,033	0,046	0,041	0,046	0,033
	0,040	0,035	0,030	0,025	0,034	0,037
	0,042	0,049	0,045	0,053	0,043	0,044
04	0,026	0,046	0,040	0,033	0,033	0,058
	0,018	0,016	0,077	0,042	0,046	0,051
	0,042	0,033	0,037	0,022	0,033	0,031
	0,029	0,040	0,025	0,018	0,023	0,023
	0,035	0,049	0,024	0,015	0,064	0,058

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,033	0,034	0,027	0,020	0,020	0,038
	0,025	0,031	0,016	0,020	0,025	0,018
	0,019	0,020	0,037	0,035	0,050	0,020
	0,061	0,051	0,017	0,038	0,047	0,018
	0,022	0,029	0,041	0,035	0,054	0,053
02	0,022	0,009	0,029	0,019	0,060	0,036
	0,019	0,030	0,048	0,048	0,010	0,022
	0,049	0,057	0,025	0,011	0,045	0,031
	0,016	0,035	0,018	0,023	0,060	0,039
	0,056	0,036	0,055	0,056	0,010	0,029
03	0,052	0,017	0,023	0,031	0,045	0,028
	0,069	0,032	0,021	0,030	0,019	0,038
	0,022	0,030	0,028	0,033	0,050	0,057
	0,018	0,037	0,023	0,024	0,044	0,015
	0,014	0,022	0,021	0,050	0,044	0,020
04	0,032	0,024	0,033	0,063	0,041	0,016
	0,020	0,016	0,018	0,006	0,055	0,019
	0,009	0,016	0,021	0,045	0,034	0,037
	0,025	0,009	0,040	0,048	0,058	0,028
	0,027	0,026	0,024	0,014	0,053	0,020

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

ANIMAIS	LEITURAS DE ABSORVÂNCIA					
01	0,038	0,058	0,038	0,027	0,036	0,018
	0,019	0,023	0,013	0,008	0,053	0,066
	0,018	0,013	0,017	0,056	0,060	0,021
	0,018	0,015	0,036	0,026	0,007	0,019
	0,010	0,027	0,022	0,056	0,032	0,037
02	0,007	0,022	0,023	0,052	0,028	0,039
	0,018	0,044	0,045	0,038	0,048	0,036
	0,030	0,025	0,063	0,039	0,022	0,039
	0,042	0,029	0,037	0,052	0,051	0,035
	0,022	0,046	0,024	0,005	0,025	0,022
03	0,012	0,051	0,064	0,042	0,050	0,045
	0,059	0,040	0,024	0,025	0,027	0,026
	0,037	0,022	0,011	0,008	0,020	0,015
	0,034	0,025	0,015	0,054	0,067	0,061
	0,036	0,057	0,054	0,040	0,041	0,040
04	0,026	0,008	0,073	0,052	0,041	0,013
	0,009	0,022	0,024	0,020	0,067	0,030
	0,017	0,048	0,011	0,047	0,045	0,045
	0,045	0,053	0,023	0,016	0,029	0,061
	0,014	0,030	0,052	0,018	0,055	0,019

5. ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE - PERÍODO: 10 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,109	0,106	0,054	0,060	0,035	0,028
	0,041	0,033	0,121	0,095	0,036	0,058
	0,073	0,078	0,090	0,043	0,104	0,024
	0,063	0,035	0,074	0,074	0,080	0,053
	0,081	0,045	0,027	0,124	0,071	0,030
02	0,020	0,067	0,172	0,043	0,064	0,062
	0,053	0,038	0,041	0,051	0,030	0,031
	0,037	0,035	0,026	0,059	0,135	0,057
	0,024	0,026	0,102	0,028	0,063	0,093
	0,081	0,035	0,045	0,113	0,096	0,031
03	0,049	0,027	0,038	0,059	0,054	0,065
	0,033	0,044	0,093	0,040	0,071	0,041
	0,029	0,085	0,050	0,032	0,036	0,074
	0,055	0,031	0,050	0,125	0,056	0,057
	0,038	0,039	0,089	0,037	0,123	0,118
04	0,046	0,065	0,054	0,048	0,026	0,052
	0,088	0,052	0,080	0,050	0,043	0,052
	0,066	0,047	0,042	0,049	0,046	0,094
	0,045	0,042	0,047	0,051	0,098	0,051
	0,053	0,053	0,071	0,038	0,018	0,047

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,090	0,087	0,073	0,053	0,072	0,084
	0,055	0,045	0,042	0,053	0,052	0,033
	0,056	0,039	0,072	0,072	0,057	0,060
	0,033	0,048	0,063	0,048	0,064	0,075
	0,091	0,049	0,048	0,049	0,045	0,053
02	0,072	0,037	0,092	0,101	0,072	0,027
	0,070	0,074	0,045	0,041	0,055	0,031
	0,043	0,063	0,050	0,039	0,041	0,061
	0,055	0,078	0,063	0,044	0,075	0,070
	0,052	0,029	0,029	0,047	0,051	0,051
03	0,035	0,046	0,044	0,062	0,039	0,055
	0,082	0,056	0,071	0,075	0,063	0,041
	0,045	0,065	0,071	0,043	0,048	0,061
	0,066	0,063	0,051	0,048	0,081	0,057
	0,075	0,029	0,044	0,053	0,054	0,040
04	0,032	0,055	0,065	0,057	0,075	0,076
	0,058	0,067	0,061	0,049	0,044	0,056
	0,044	0,038	0,050	0,070	0,059	0,046
	0,057	0,057	0,060	0,049	0,043	0,079
	0,069	0,069	0,044	0,057	0,060	0,052

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,032	0,047	0,036	0,020	0,025	0,035
	0,040	0,025	0,039	0,050	0,024	0,031
	0,064	0,063	0,035	0,023	0,026	0,045
	0,023	0,037	0,034	0,041	0,053	0,033
	0,024	0,031	0,051	0,051	0,066	0,064
02	0,044	0,054	0,058	0,048	0,030	0,048
	0,039	0,032	0,042	0,045	0,043	0,053
	0,049	0,040	0,031	0,055	0,043	0,036
	0,052	0,058	0,048	0,056	0,048	0,035
	0,041	0,028	0,037	0,073	0,051	0,031
03	0,031	0,040	0,048	0,026	0,042	0,038
	0,041	0,043	0,022	0,032	0,028	0,035
	0,033	0,025	0,052	0,057	0,059	0,066
	0,039	0,043	0,045	0,028	0,027	0,033
	0,027	0,042	0,047	0,038	0,030	0,047
04	0,020	0,025	0,038	0,050	0,050	0,056
	0,033	0,038	0,031	0,059	0,051	0,025
	0,037	0,051	0,018	0,029	0,036	0,057
	0,027	0,042	0,042	0,031	0,028	0,021
	0,029	0,030	0,030	0,043	0,044	0,042

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,048	0,056	0,023	0,026	0,033	0,036
	0,045	0,078	0,062	0,015	0,044	0,068
	0,047	0,024	0,055	0,037	0,043	0,025
	0,049	0,047	0,031	0,065	0,012	0,025
	0,028	0,060	0,086	0,033	0,050	0,042
02	0,025	0,028	0,030	0,066	0,016	0,026
	0,040	0,030	0,052	0,058	0,033	0,053
	0,054	0,031	0,088	0,049	0,047	0,053
	0,017	0,023	0,060	0,024	0,031	0,051
	0,067	0,018	0,025	0,037	0,018	0,067
03	0,052	0,022	0,021	0,021	0,045	0,049
	0,076	0,063	0,036	0,075	0,044	0,052
	0,060	0,031	0,024	0,026	0,023	0,028
	0,056	0,036	0,039	0,034	0,027	0,037
	0,048	0,058	0,077	0,030	0,059	0,037
04	0,030	0,026	0,037	0,032	0,067	0,059
	0,066	0,052	0,029	0,056	0,029	0,048
	0,068	0,076	0,032	0,038	0,045	0,020
	0,035	0,026	0,037	0,036	0,024	0,042
	0,043	0,057	0,034	0,039	0,052	0,032

9. ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE - PERÍODO: 14 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,021	0,041	0,062	0,058	0,049	0,039
	0,068	0,046	0,056	0,077	0,084	0,055
	0,105	0,114	0,083	0,111	0,061	0,104
	0,073	0,110	0,056	0,080	0,062	0,040
	0,047	0,022	0,033	0,052	0,099	0,052
02	0,036	0,040	0,029	0,016	0,041	0,101
	0,074	0,039	0,105	0,098	0,096	0,092
	0,074	0,067	0,043	0,125	0,107	0,027
	0,075	0,067	0,090	0,064	0,108	0,036
	0,031	0,075	0,053	0,021	0,046	0,050
03	0,047	0,040	0,061	0,076	0,057	0,046
	0,082	0,109	0,044	0,042	0,054	0,076
	0,071	0,059	0,039	0,041	0,055	0,044
	0,070	0,045	0,067	0,121	0,061	0,069
	0,051	0,058	0,065	0,058	0,041	0,046
04	0,024	0,058	0,070	0,070	0,072	0,061
	0,024	0,080	0,066	0,102	0,056	0,042
	0,073	0,064	0,025	0,053	0,065	0,057
	0,079	0,057	0,053	0,069	0,086	0,061
	0,083	0,047	0,056	0,071	0,116	0,099

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,037	0,048	0,047	0,053	0,064	0,075
	0,057	0,058	0,074	0,080	0,047	0,061
	0,046	0,042	0,042	0,077	0,084	0,058
	0,046	0,043	0,071	0,051	0,052	0,056
	0,050	0,059	0,074	0,057	0,062	0,045
02	0,034	0,036	0,062	0,068	0,068	0,053
	0,036	0,077	0,079	0,053	0,041	0,073
	0,075	0,043	0,038	0,048	0,066	0,064
	0,060	0,065	0,044	0,047	0,053	0,040
	0,039	0,042	0,038	0,057	0,034	0,043
03	0,057	0,043	0,058	0,068	0,070	0,070
	0,055	0,033	0,054	0,057	0,065	0,062
	0,076	0,066	0,063	0,044	0,064	0,054
	0,060	0,044	0,060	0,058	0,061	0,071
	0,064	0,066	0,074	0,080	0,070	0,085
04	0,033	0,078	0,040	0,076	0,073	0,040
	0,068	0,077	0,053	0,047	0,033	0,049
	0,076	0,074	0,055	0,041	0,045	0,043
	0,041	0,064	0,062	0,062	0,093	0,027
	0,085	0,062	0,056	0,057	0,046	0,077

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,051	0,078	0,070	0,044	0,047	0,059
	0,054	0,043	0,049	0,066	0,054	0,055
	0,046	0,046	0,057	0,061	0,072	0,076
	0,074	0,051	0,052	0,047	0,043	0,068
	0,056	0,046	0,060	0,054	0,033	0,053
02	0,047	0,082	0,046	0,062	0,053	0,058
	0,076	0,072	0,060	0,059	0,051	0,061
	0,045	0,049	0,048	0,033	0,041	0,042
	0,041	0,038	0,045	0,062	0,079	0,071
	0,073	0,049	0,049	0,068	0,047	0,059
03	0,046	0,059	0,055	0,051	0,051	0,065
	0,066	0,070	0,074	0,057	0,056	0,071
	0,066	0,046	0,048	0,059	0,073	0,076
	0,067	0,056	0,056	0,064	0,048	0,058
	0,051	0,064	0,047	0,070	0,039	0,053
04	0,065	0,080	0,082	0,041	0,046	0,055
	0,036	0,076	0,061	0,043	0,031	0,082
	0,059	0,054	0,049	0,038	0,045	0,049
	0,037	0,052	0,043	0,074	0,072	0,069
	0,077	0,073	0,087	0,066	0,048	0,046

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,040	0,076	0,043	0,049	0,051	0,028
	0,049	0,073	0,047	0,044	0,061	0,044
	0,044	0,047	0,078	0,050	0,045	0,048
	0,037	0,053	0,053	0,046	0,044	0,042
	0,051	0,076	0,080	0,072	0,046	0,035
02	0,050	0,053	0,062	0,081	0,069	0,057
	0,057	0,050	0,039	0,026	0,034	0,028
	0,055	0,048	0,041	0,038	0,027	0,030
	0,055	0,058	0,046	0,050	0,044	0,081
	0,049	0,050	0,045	0,039	0,078	0,044
03	0,045	0,036	0,038	0,056	0,043	0,048
	0,076	0,070	0,029	0,053	0,054	0,032
	0,054	0,059	0,068	0,046	0,042	0,042
	0,069	0,047	0,045	0,054	0,061	0,042
	0,032	0,047	0,055	0,062	0,071	0,037
04	0,042	0,080	0,050	0,041	0,052	0,042
	0,047	0,059	0,062	0,056	0,052	0,049
	0,073	0,043	0,038	0,068	0,076	0,041
	0,039	0,056	0,069	0,070	0,040	0,043
	0,050	0,071	0,045	0,042	0,042	0,035

13. ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE - PERÍODO: 21 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,069	0,009	0,081	0,068	0,046	0,078
	0,077	0,038	0,043	0,075	0,040	0,044
	0,067	0,029	0,054	0,019	0,077	0,072
	0,081	0,063	0,098	0,016	0,041	0,042
	0,046	0,031	0,034	0,041	0,024	0,072
02	0,062	0,052	0,066	0,062	0,054	0,070
	0,068	0,038	0,074	0,062	0,036	0,044
	0,093	0,050	0,094	0,075	0,054	0,051
	0,076	0,044	0,009	0,030	0,039	0,049
	0,030	0,038	0,029	0,055	0,074	0,063
03	0,039	0,042	0,042	0,040	0,036	0,033
	0,057	0,058	0,076	0,070	0,078	0,054
	0,048	0,043	0,040	0,067	0,068	0,049
	0,042	0,057	0,028	0,047	0,044	0,035
	0,054	0,077	0,085	0,070	0,092	0,043
04	0,038	0,029	0,071	0,072	0,065	0,063
	0,043	0,039	0,048	0,073	0,055	0,059
	0,050	0,044	0,037	0,057	0,094	0,047
	0,038	0,054	0,050	0,040	0,027	0,027
	0,043	0,040	0,071	0,036	0,073	0,047

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,024	0,029	0,075	0,075	0,052	0,062
	0,049	0,050	0,048	0,050	0,053	0,057
	0,041	0,031	0,026	0,027	0,039	0,043
	0,044	0,053	0,068	0,045	0,050	0,060
	0,076	0,062	0,069	0,048	0,049	0,054
02	0,065	0,042	0,050	0,043	0,045	0,044
	0,043	0,041	0,071	0,066	0,066	0,062
	0,071	0,032	0,033	0,036	0,040	0,037
	0,028	0,029	0,058	0,047	0,055	0,052
	0,060	0,053	0,053	0,043	0,048	0,061
03	0,042	0,067	0,070	0,063	0,042	0,058
	0,033	0,037	0,034	0,054	0,032	0,036
	0,054	0,085	0,062	0,070	0,069	0,046
	0,063	0,042	0,053	0,070	0,049	0,040
	0,040	0,068	0,063	0,043	0,029	0,037
04	0,052	0,058	0,037	0,040	0,062	0,082
	0,055	0,045	0,033	0,044	0,028	0,056
	0,042	0,081	0,029	0,041	0,045	0,037
	0,045	0,051	0,067	0,063	0,053	0,049
	0,077	0,079	0,062	0,048	0,046	0,053

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,032	0,067	0,022	0,041	0,030	0,041
	0,047	0,058	0,041	0,022	0,056	0,074
	0,054	0,059	0,038	0,036	0,058	0,046
	0,038	0,041	0,058	0,042	0,042	0,050
	0,043	0,049	0,048	0,037	0,029	0,040
02	0,032	0,031	0,027	0,060	0,072	0,072
	0,047	0,044	0,028	0,029	0,021	0,016
	0,071	0,025	0,024	0,045	0,047	0,047
	0,052	0,028	0,031	0,034	0,058	0,064
	0,039	0,050	0,052	0,041	0,026	0,030
03	0,025	0,021	0,029	0,023	0,022	0,038
	0,052	0,026	0,023	0,029	0,026	0,033
	0,055	0,038	0,048	0,021	0,049	0,061
	0,032	0,041	0,042	0,047	0,055	0,057
	0,053	0,028	0,047	0,060	0,052	0,045
04	0,043	0,031	0,024	0,061	0,035	0,052
	0,059	0,060	0,031	0,040	0,036	0,045
	0,068	0,050	0,035	0,066	0,039	0,021
	0,052	0,060	0,018	0,019	0,058	0,021
	0,019	0,049	0,042	0,019	0,041	0,042

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,043	0,045	0,041	0,030	0,022	0,018
	0,040	0,031	0,056	0,041	0,028	0,025
	0,021	0,047	0,043	0,061	0,021	0,028
	0,028	0,028	0,029	0,043	0,040	0,048
	0,049	0,033	0,056	0,046	0,033	0,035
02	0,026	0,046	0,043	0,034	0,035	0,033
	0,032	0,028	0,039	0,036	0,038	0,065
	0,053	0,048	0,036	0,059	0,043	0,044
	0,046	0,039	0,030	0,031	0,053	0,052
	0,048	0,030	0,041	0,037	0,041	0,055
03	0,040	0,016	0,022	0,032	0,028	0,054
	0,037	0,049	0,030	0,029	0,061	0,056
	0,039	0,050	0,050	0,039	0,029	0,033
	0,030	0,055	0,063	0,038	0,022	0,022
	0,049	0,042	0,055	0,054	0,036	0,024
04	0,042	0,041	0,034	0,036	0,031	0,045
	0,039	0,042	0,046	0,020	0,038	0,033
	0,044	0,040	0,038	0,054	0,040	0,049
	0,046	0,051	0,046	0,019	0,050	0,022
	0,024	0,050	0,052	0,022	0,051	0,041

17. ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE - PERÍODO: 28 dias

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,015	0,028	0,014	0,014	0,016	0,018
	0,017	0,017	0,017	0,017	0,043	0,031
	0,020	0,019	0,018	0,019	0,025	0,027
	0,052	0,019	0,019	0,020	0,022	0,051
	0,020	0,030	0,027	0,017	0,028	0,016
02	0,029	0,027	0,025	0,025	0,025	0,027
	0,025	0,027	0,028	0,031	0,032	0,030
	0,036	0,025	0,020	0,026	0,040	0,028
	0,042	0,036	0,056	0,030	0,033	0,032
	0,036	0,040	0,031	0,031	0,034	0,019
03	0,015	0,021	0,023	0,032	0,020	0,029
	0,025	0,022	0,022	0,016	0,020	0,028
	0,008	0,028	0,023	0,023	0,038	0,009
	0,029	0,030	0,038	0,031	0,024	0,029
	0,012	0,018	0,037	0,023	0,027	0,034
04	0,023	0,027	0,029	0,032	0,037	0,023
	0,021	0,022	0,036	0,034	0,024	0,011
	0,023	0,012	0,029	0,039	0,030	0,016
	0,031	0,012	0,015	0,025	0,018	0,015
	0,024	0,014	0,021	0,016	0,019	0,018

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,038	0,026	0,032	0,022	0,019	0,017
	0,020	0,027	0,041	0,019	0,040	0,038
	0,017	0,014	0,028	0,020	0,017	0,022
	0,020	0,021	0,021	0,020	0,011	0,027
	0,028	0,031	0,016	0,028	0,019	0,011
02	0,028	0,010	0,029	0,029	0,035	0,029
	0,015	0,011	0,014	0,012	0,027	0,029
	0,043	0,016	0,030	0,032	0,032	0,026
	0,037	0,033	0,033	0,029	0,028	0,019
	0,024	0,020	0,033	0,030	0,016	0,022
03	0,032	0,020	0,013	0,032	0,025	0,022
	0,035	0,030	0,019	0,014	0,021	0,023
	0,016	0,035	0,034	0,021	0,020	0,020
	0,015	0,032	0,017	0,031	0,041	0,025
	0,021	0,019	0,020	0,014	0,023	0,039
04	0,013	0,021	0,010	0,021	0,016	0,044
	0,017	0,028	0,015	0,034	0,041	0,014
	0,026	0,024	0,026	0,010	0,024	0,016
	0,023	0,032	0,017	0,037	0,031	0,032
	0,028	0,016	0,030	0,029	0,022	0,016

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,021	0,033	0,024	0,014	0,017	0,014
	0,008	0,011	0,038	0,044	0,036	0,023
	0,041	0,032	0,033	0,028	0,049	0,041
	0,028	0,030	0,029	0,034	0,030	0,017
	0,017	0,031	0,026	0,018	0,015	0,018
02	0,035	0,030	0,031	0,030	0,029	0,024
	0,022	0,019	0,014	0,029	0,023	0,019
	0,019	0,021	0,018	0,016	0,018	0,028
	0,019	0,018	0,016	0,021	0,013	0,028
	0,013	0,029	0,036	0,028	0,017	0,048
03	0,031	0,028	0,038	0,029	0,043	0,028
	0,034	0,012	0,036	0,023	0,019	0,027
	0,019	0,025	0,022	0,011	0,012	0,019
	0,041	0,035	0,018	0,010	0,020	0,022
	0,026	0,022	0,025	0,024	0,029	0,020
04	0,025	0,011	0,024	0,027	0,028	0,036
	0,008	0,011	0,034	0,025	0,016	0,027
	0,021	0,023	0,030	0,026	0,023	0,021
	0,020	0,035	0,015	0,008	0,012	0,014
	0,013	0,029	0,024	0,024	0,023	0,026

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

ANIMAIS	LEITURAS EM ABSORVÂNCIA					
01	0,006	0,041	0,018	0,024	0,022	0,017
	0,021	0,032	0,039	0,018	0,015	0,018
	0,013	0,036	0,026	0,009	0,011	0,029
	0,031	0,040	0,025	0,021	0,016	0,013
	0,014	0,018	0,009	0,043	0,038	0,022
02	0,039	0,037	0,034	0,016	0,030	0,032
	0,028	0,027	0,019	0,019	0,022	0,029
	0,027	0,026	0,031	0,033	0,025	0,025
	0,026	0,033	0,023	0,026	0,020	0,021
	0,023	0,023	0,015	0,016	0,018	0,013
03	0,011	0,032	0,018	0,012	0,037	0,030
	0,028	0,016	0,034	0,019	0,025	0,029
	0,027	0,021	0,022	0,023	0,018	0,023
	0,014	0,022	0,012	0,017	0,014	0,028
	0,023	0,021	0,022	0,036	0,028	0,019
04	0,013	0,035	0,009	0,027	0,028	0,029
	0,009	0,020	0,017	0,021	0,021	0,011
	0,017	0,029	0,033	0,022	0,011	0,021
	0,020	0,029	0,021	0,024	0,036	0,027
	0,027	0,010	0,032	0,032	0,028	0,018