



1150015933



FOP
T/UNICAMP EL32e

MOUSTAFA MOHAMMAD EL-GUINDY

EFEITO DA HIPERVITAMINOSE A SOBRE A ATIVIDADE ESPECIFICA E A
CONCENTRAÇÃO DE ALGUMAS ENZIMAS DA VIA GLÍCOLITICA E DA
VIA PENTOSE-FOSFATO DE PERIODONTO DE RATOS

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da Univer-
sidade Estadual de Campinas, para o
Concurso de Habilitação à Docência
Livre na Área de Bioquímica

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA

T298

PIRACICABA

1978

N.º Classif.

N.º autor El 32 e

N.º

Tombo bc/15933

CM 00030050

Bib. ad. 047867

Por um amor profundo quanto o mar
Por uma amizade grande como o universo
Por uma paciência, que só cabe a quem ama

este trabalho é dedicado

ã IARA

TAMER e ...

um simples ato de reconhecimento

AGRADECIMENTOS

A colaboração sincera e desinteressada de muitas pessoas foi indispensável para a realização deste trabalho. A ausência de citação nominal é falha imperdoável, mas não significa, de forma alguma, esquecimento da colaboração prestada. A todos, os nossos mais profundos agradecimentos.

Ao professor Dr. JOSÉ NICOLAU, mestre e amigo, com sua colaboração constante e segura, foi realizado todo esse trabalho, e ainda pela compreensão e carinho, expressamos nossos sinceros agradecimentos.

Ao professor Dr. JOSÉ MERZEL, pelo apoio, colaboração e estímulo que tornaram possível a realização desse trabalho, deixamos aqui o nosso muito obrigado.

Ao professor Dr. ANTONIO CARLOS NEDER, pela amizade, incentivo e colaboração que se refletem em cada palavra desta tese, queremos consignar nossa profunda gratidão.

Aos professores Drs. LOURENÇO BOZZO, MARIO ROBERTO VIZIOLI, EDUARDO DARUJE, ANTONIO CARLOS FERRAZ CORREA e GILBERTO D'ASSUNÇÃO FERNANDES, pela valiosa colaboração prestada durante a realização desse trabalho, os nossos sinceros agradecimentos.

Ao professor Dr. MYAKI ISSAO, pela amizade, pelo estímulo, pela preocupação contínua para com a realização deste trabalho, os nossos agradecimentos.

Ao professor Dr. RUBENS ROSA pela generosa colaboração, que muito representou para nós durante o desenvolvimento dessa pesquisa, o nosso muito obrigado.

As acadêmicas NEIDE YOSHICO SAKATA, MARGARETH BATISTELA e MARIA MARLY VONO, os nossos agradecimentos pela valiosa colaboração, pela amizade e lealdade comprovadas a cada instante durante a realização deste trabalho.

A srta. MARIA APARECIDA NALIN, secretária do Depto. de Biologia e Patologia Buco-Dental, o nosso muito obrigado pela incansável colaboração da datilografia dos originais deste trabalho.

Ao sr. WALDOMIRO VIEIRA FILHO, técnico do laboratório de Bioquímica do Departamento, os nossos agradecimentos pela dedicação e amizade dispensadas, durante a realização deste trabalho.

Aos caros colegas professores e funcionários do Depto. de Biologia e Patologia Buco-Dental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba e do laboratório do prof. Dr. José Nicolau do Depto. de Bioquímica da Universidade de São Paulo, o nosso muito obrigado.

A equipe, tão eficiente quanto simpática, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba e, particularmente Sra. Ivany do Carmo Guidolin Gerola, o nosso muito obrigado.

A equipe da Gráfica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, e especialmente ao Sr. Sebastião Rodrigues de Barros, os nossos agradecimentos pela valiosa colaboração prestada na realização deste trabalho.

I N D I C E

I	- INTRODUÇÃO	7
II	- REVISTA DA LITERATURA	11
	II.1 - Composição Química do Pariodonto	12
	II.2 - Metabolismo Normal do Periodonto	18
	II.3 - Aspêctos Bioquímicos da Doença Periodontal	22
	II.4 - Vitamina A: Estrutura e Atuação Metabólica	28
III	- MATERIAL E MÉTODOS	33
	III.1 - Determinação da Hexoquinase	36
	III.2 - Determinação da Fosfofrutoquinase	36
	III.3 - Determinação da Aldolase	37
	III.4 - Determinação da Desidrogenase Lática.....	38
	III.5 - Determinação da Glicose-6-fosfato Desidrogenase	38
	III.6 - Determinação da 6-fosfogluconato Desidrogenase	39
IV	- RESULTADOS	41
V	- DISCUSSÃO	58
VI	- SUMÁRIO	67

VII	- APÊNDICE	69
VIII	- BIBLIOGRAFIA	119

I - INTRODUÇÃO

A evolução científica, extremamente rápida e profunda, nos últimos 50 anos, contribuiu significativamente para acentuar a importância da Bioquímica no contexto das ciências biológicas e particularmente as ciências da saúde. Os maiores problemas dessas áreas tais como mecanismos de herança, diferenciação celular, erros inatos do metabolismo e muitos outros, somente foram compreendidos ao serem investigados por métodos bioquímicos. Sem medo de estarmos exagerando, podemos afirmar que a Bioquímica atualmente detem nos seus diversos capítulos a compreensão perfeita do fenômeno biológico, além de oferecer os meios para o controle dos seus desvios.

Assim sendo, a doença ou os fenômenos patológicos podem ser definidos, bioquimicamente, como o fruto de um desvio metabólico induzidos pela alteração da estrutura ou da função dos componentes celulares.

Esse fato justifica o profundo apelo, formulado por cientistas e educadores, no sentido de aproximar a ciência básica com os cursos profissionalizantes, - principalmente nas áreas clínicas, isto é, a Medicina e a Odontologia. Esta aproximação proporcionaria através das pesquisas realizadas nas áreas biológicas, os subsídios indispensáveis para que os profissionais da saúde possam diagnosticar, planejar e executar suas intervenções com maior compreensão e segurança. É pois, integrados nessa reformulação do pensamento científico, que planejamos este trabalho.

A doença periodontal é o problema mais im

portante na prática da odontologia moderna. Nessa frase evidente e realista, Glickman (1974) descreveu o papel fundamental do periodonto no contexto da saúde bucal. A moléstia periodontal é tão antiga quanto a própria história humana, essa anomalia aparece como a mais comum das moléstias descobertas nos corpos embalsamados dos egípcios há 4.000 anos. As informações sobre aquela época, extraídas dos "Papiros de Ebers" demonstraram a grande atenção dispensada pelos egípcios à saúde bucal manifestada através de receitas para manutenção dos dentes e a formação de especialistas em "Tratamento Bucal".

Uma passagem pela história desde aquela época revela que a doença periodontal nunca deixou de ser citada. Atualmente esta doença apresenta-se como uma moléstia verdadeiramente Universal, atingindo todas as raças e abrangendo todas as idades.

Uma análise profunda da natureza dessa anomalia demonstra claramente a importância primordial da contribuição bioquímica na compreensão e controle dessa patologia. Na procura de induzir alterações bioquímicas controladas, com o fim de estudar o possível envolvimento das principais vias metabólicas nas condições patológicas do periodonto, encontramos na vitamina A um excelente mediador para esse fim. Uma vitamina de larga atuação metabólica que levou alguns pesquisadores à considerá-la uma vitamina de ação hormonal (Sebrell, Jr. e Harris, 1954).

Os efeitos da vitamina A em doses elevadas sobre os tecidos periodontais, destruição do colágeno e estimulação da síntese das glicosaminoglicanas, parece mimetizar

o ocorrido durante a inflamação desses tecidos. Segundo Rapp e Orzolek (1966), a destruição do colágeno é um dos passos mais importantes no processo inflamatório. O aumento das glicosaminoglicanas e das glicoproteínas após a indução da inflamação foi constatado por Fehér e Jakab (1972).

Essa semelhança nos sugeriu no uso excessivo de vitamina A, um excelente modelo para estudar as possíveis alterações metabólicas ocorridas no tecido periodontal durante o processo patológico induzido por ela. Planejamos, nesse trabalho, estudar as prováveis alterações ocorridas na via glicolítica e na pentose-fosfato em ratos submetidos a hipervitaminose A. O trabalho tem por objetivo procurar oferecer alguma contribuição ao esforço intenso, observado na literatura, que visa elucidar o mecanismo da ação da vitamina A e ao mesmo tempo adicionar alguma informação sobre os eventos bioquímicos ocorridos no periodonto durante o processo da inflamação, processo esse, cujo entendimento constitui um dos aspectos mais importantes da doença periodontal.

Modesta, sabemos, será a nossa participação no campo amplamente vasto da investigação científica, porém a apresentamos como uma informação primeira, tendo em mente as palavras de Finar "quem espera para fazer uma coisa sem falhas, não fará coisa alguma".

II - REVISTA DA LITERATURA

II.1 - Composição Química do Periodonto

O periodonto, aparelho responsável pela sustentação e proteção do dente, é composto por quatro estruturas: gengiva, ligamento, cimento e osso. A gengiva é constituída de tecido epitelial e tecido conjuntivo separados por um complexo de fibrilas e matriz denominado de membrana basal, o tecido epitelial não é vascularizado, o que permite concluir que a sua nutrição ocorre através de um processo de difusão onde a membrana basal exerce um papel importante. A superfície desse epitélio apresenta diferentes padrões de queratinização, podendo resultar em orto, para ou não queratinização. As características morfológicas observadas no epitélio gengival são semelhantes a aquelas constatadas em outros tecidos. Observa-se, portanto, a ausência de substâncias intercelulares, no epitélio onde as células são mantidas justapostas através de uma substância fibrilar complexa e densa, aparentemente secretada pelas próprias células. Várias evidências práticas demonstraram que a natureza química dessas substâncias se assemelha com as glicoproteínas e glicosaminoglicans.

A membrana basal é constituída essencialmente de proteínas, tendo sido demonstrado também a presença de pequenas quantidades de carboidratos. Os fenômenos metabólicos ocorridos no tecido epitelial e o posicionamento morfológico da membrana basal evidenciam que ela exerce duas funções: uma de barreira, capaz de ultrafiltração e outra de união mecânica entre o epitélio e o tecido con

juntivo na gengiva.

O tecido conjuntivo gengival, à semelhança de outros da mesma natureza, apresenta poucas células e grandes quantidades de substância intercelular. As proteínas fibrosas mais encontradas na matriz intercelular são constituídas de colágeno, reticulina e elastina. Proteoglicans, glicosaminoglicans e glicoproteínas também estão presentes nesse tecido.

O colágeno é o maior componente estrutural dos tecidos periodontais, a estrutura helicoidal tripla, dessa proteína formada por três cadeias polipeptídicas, é mantida graças à presença maciça do amino ácido glicina na molécula.

Estudos da molécula de colágeno através da desnaturação prévia com calor, guanidina, uréia ou tiocianato, e a separação por meio da ultracentrifugação ou eletroforese em gel, demonstraram que essa molécula compõe-se de três frações denominadas componentes α , β e γ . O emprego da cromatografia na análise dos componentes da molécula do colágeno resulta na obtenção de duas unidades distintas, embora apresentem, aproximadamente, o mesmo peso molecular (100.000). Essas unidades encontradas na proporção de 2:1 foram denominadas α_1 e α_2 , ficando a composição molecular dessa cadeia assim determinada $\{\alpha_1\}_2 \alpha_2$.

A descoberta de outras cadeias estruturalmente diferentes de α_1 e α_2 induziram, arbitrariamente, ao uso de algarismos romanos (I, II, III...), para identificar essas cadeias, segundo a ordem de descoberta. Os componentes β e γ da molécula do colágeno apresentam evidências

de serem dímeros e trímeros da cadeia α .

A composição química da proteína colagenosa apresenta características próprias, sendo o amino ácido glicina encontrado numa proporção superior a 30% do total dos amino ácidos componentes da proteína. A prolina e a hidroxiprolina ocupam 20 a 25% do total da molécula. A presença da hidroxiprolina é uma característica estrutural do colágeno enquanto a tirosina e a fenilalanina são encontrados - em quantidades bastante reduzidas. A cisteína não participa da estrutura do colágeno dos vertebrados.

Unidades monossacarídicas ou dissacarídicas são covalentemente ligadas ao carbono δ da hidroxilisina - das cadeias polipeptídicas do colágeno. Essas unidades, galactose ou 2-0- α -D-glicopiranosil-D-galactose encontram-se em quantidades diretamente proporcionais ao número dos resíduos de hidroxilisina na cadeia.

A biossíntese do colágeno, à semelhança de todas as outras proteínas do organismo, envolve as etapas normais de transcrição e tradução, seguidas por outros passos característicos da formação dessa molécula, isto é, a hidroxilação da prolina e da lisina, formação da hêlice, glicosilação, transporte e secreção, conversão do procolágeno em colágeno e a formação das fibras.

A síntese do colágeno é iniciada pela formação do procolágeno, um precursor de tamanho maior e que é submetido à ação de enzimas proteolíticas para produzir a proteína funcional. A prolina e a lisina são hidroxiladas após sua incorporação na cadeia polipeptídica. As enzimas responsáveis por esse processo são peptidil prolina hidroxi

lase e peptidil lisina hidroxilase respectivamente, as duas hidroxilases requerem, como cofatores enzimáticos, oxigênio molecular, ions de ferro (F^{++}), cetoglutarato e ácido ascórbico. A hidroxilação é indispensável para a extração das moléculas da célula.

Estudos recentes demonstraram que o peptídeo não hidroxilado não apresenta condições suficientes de estabilidade para a manutenção da estrutura da hélice, e isso oferece subsídios para supor que a formação da hélice ocorre após a hidroxilação. A glicosilação das cadeias ocorre também dentro das células. As unidades de galactose e de 2-0- α -D-glicopirinosil-D-galactose são covalentemente ligadas através de uma ligação 0-glicosídica ao carbono 8 da hidroxilisina. A reação da glicosilação é catalisada por duas enzimas, a galactosiltransferase, que estimula a transferência da galactose para a hidroxilisina e a glicosiltransferase, enzima responsável pela adição de uma glicose para a galactosilhidroxilisina.

A molécula do procolágeno é secretada logo depois para o espaço extracelular. Várias teorias foram formuladas para explicar o mecanismo da extrusão do procolágeno. Weinstock e Leblond (1974) sugeriram a participação do complexo de Golgi na secreção do colágeno pelos odontoblastos. Com base nesse trabalho, acredita-se que as moléculas proteicas migram do retículo endoplasmático na direção da região de Golgi, de onde são carregadas em vesículas secretoras até a membrana, onde se fundem e liberam suas cargas no espaço intersticial.

A conversão do procolágeno em colágeno é um

processo enzimático catalizado por uma peptidase; esse passo é um pré-requisito para a polimerização das cadeias em microfibrilas e o subsequente agrupamento em fibrilas. A maturação do colágeno se desenvolve através da instalação de ligações químicas covalentes e a formação de ligações cruzadas entre as moléculas dentro das microfibrilas, como também entre as microfibrilas dentro das fibrilas do colágeno.

As glicosaminoglicanas também ocupam um lugar de grande importância no tecido conjuntivo do periodonto. A natureza química dessas substâncias foram estudadas utilizando-se das técnicas de precipitação com cloreto de etil piridínio e etanol e o emprego da separação cromatográfica, o que permitiu identificar 4 a 6 sulfato de condroitin, sulfato de dermatan, sulfato de heparan e ácido hialurônico (Munemato et al, 1970).

O controle da biossíntese das glicosaminoglicanas é obtido através de um sistema eficiente de especificidade enzimática. Cada uma das enzimas envolvidas nesse mecanismo é altamente específica para com a unidade do açúcar transferida do nucleotídeo, uridina difosfato (Leloir e Cardini, 1960), como também para com as características do receptor. Assim, essas transferases atuam em sequência obrigatória, sendo que o produto da ação de uma é o substrato da outra subsequente.

Segundo Telser et al (1965), a cadeia polipeptídica no complexo proteína-polissacarídeo é sintetizada em primeiro lugar considerando, ainda, que sua presença é indispensável para a síntese da parte polissacarídica do complexo. Várias enzimas foram isoladas e identificadas co

mo responsáveis pela formação da ponte de ligação entre a cadeia polipeptídica e a parte sacarídica. Essas enzimas são xilose transferase, galactosil transferase I, galactosil transferase II e glucoroniltransferase I; atuando nessa sequência, essas enzimas adicionam sucessivamente xilose, galactose e ácido glicurônico. A seguir, procede-se a síntese da cadeia polissacarídica propriamente dita, com adição das unidades N-acetil-hexosamina e ácido N-acetilurônico, alternadamente. A sulfatação das cadeias polissacarídicas, com exceção do ácido hialurônico, ocorre no aparelho de Golgi.

A descrição da natureza química do colágeno e dos mucopolissacarídeos oferece subsídios para a compreensão da composição química do ligamento periodontal, membrana essa constituída principalmente de colágeno (aproximadamente 50%). As mesmas glicosaminoglicanas, já descritas, também são encontradas nesse tecido. Esses dois componentes apresentam como característica, a renovação muito rápida no ligamento periodontal.

O cemento e o osso são os tecidos mineralizados do periodonto. A fração orgânica de ambos é formada principalmente de colágeno e funciona como matriz sobre a qual os minerais são depositados na forma de hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

II.2 - Metabolismo Normal do Periodonto

A via glicolítica é a principal fonte de energia nos tecidos periodontais. A transformação da glicose em glicose-6-fosfato, uma reação catalizada pela hexoquinase, é o passo primordial no metabolismo dessa hexose. A glicose-6-fosfato pode iniciar a síntese do glicogênio, a forma de reserva energética, como também pode iniciar as vias catabólicas do metabolismo da glicose, isto é, a glicólise e a via pentose fosfato.

Na via glicolítica, a glicose fosforilada é convertida em piruvato através de uma série de reações enzimáticas, num processo de metabolismo anaeróbico desenvolvido no citoplasma da célula. O ATP é produzido durante essas transformações, embora em pequena quantidade. A via glicolítica é bastante ativa no periodonto, Charreau et al (1966) estudaram a atividade da fosfohexoseisomerase, aldolase, fosfogliceroquinase e glicose-6-fosfatase nos tecidos periodontais de cobaia, comparando os dados obtidos com a atividade das mesmas enzimas em outros órgãos como fígado, rins, adrenais, hipófise e testículos dos mesmos animais. Os resultados obtidos por esses autores, permitiram observar que as enzimas estudadas, com exceção da glicose-6-fosfatase, apresentaram no periodonto, atividade igual ou superior aos outros tecidos.

Apesar da participação energética quantitativamente limitada, a via pentose fosfato exerce um papel de grande importância no contexto metabólico dos tecidos pe

riodontais. Ela produz ribose para a síntese dos ácidos nucleicos, proporciona um meio para metabolizar as pentoses e ainda oferece NADPH necessário para outras vias metabólicas. As duas reações iniciais dessa via são desidrogenação e descarboxilação, após as quais a glicose é convertida em ribulose-5-fosfat; esse composto é submetido a uma série de interconversões, resultando finalmente na formação de hexose fosfatada e triose fosfatada.

O piruvato, após penetrar na mitocôndria, é descarboxilado e metabolizado no ciclo de Krebs por um processo de oxidação aeróbica. As coenzimas reduzidas durante o ciclo são reoxidadas no sistema de transporte de elétrons, onde verifica-se a produção real de energia. Nessa cadeia respiratória ocorre a formação de H_2O e o consumo de oxigênio.

A atividade das enzimas envolvidas no ciclo dos ácidos tricarboxílicos do periodonto foi estudada por vários autores. Person et al (1965) determinaram a atividade específica do citocromo oxidase e NADH citocromo redutase na gengiva "in vivo" e "in vitro". A atividade significativamente bem maior observada "in vitro" permitiu aos autores sugerir a existência de inibidores endógenos da atividade de oxidativa na gengiva. Ainda, em 1965, Charreou et al relataram que a atividade da desidrogenase isocítrica, aconitase, fumarase e desidrogenase málica no tecido periodontal é equiparada com outros tecidos do organismo (coração, músculo, fígado e rins). A alta atividade dessas enzimas, no periodonto, indica uma intensa oxidação aeróbica através do ciclo de Krebs e conseqüentemente, uma alta produção energética.

tica, como também pode sugerir uma ativação da glicólise ou da transaminação. Dados semelhantes foram obtidos por Bergquist et al (1974).

A participação ativa do ciclo de Krebs no metabolismo periodontal atraiu a atenção de vários autores para estudar o consumo de oxigênio nos tecidos orais. Assim, Lainson e Fisher (1968) determinaram o consumo de oxigênio na gengiva inserida, epitélio gengival e no tecido conjuntivo, em fase de oxigênio a 37°C, constatando que o QO_2 nesses tecidos foi de 1.56, 2.09 e 0.69 respectivamente. Acredita-se que uma parcela considerável de oxigênio utilizado pelo tecido conjuntivo é destinado para fins não respiratórios. Experimentos realizados em polpa dental (Fisher e Mckercher, 1969; Mckercher e Fisher, 1968) evidenciaram essa conclusão.

A natureza da síntese do colágeno e o fato segundo o qual a prolina e a lisina são incorporados na cadeia polipeptídica, na forma não hidroxilada, sendo depois submetidos ao processo de hidroxilação, indica que uma parcela do oxigênio consumido pelo tecido é destinada a esse processo. Os trabalhos de Prochop et al (1963) e Stallard (1963), demonstraram que o oxigênio atmosférico participa na hidroxilação da prolina e da lisina durante a síntese do colágeno num processo marcadamente rápido, principalmente quando o tecido está em desenvolvimento. Com base nesses achados, Bergquist e Fisher (1970) atribuíram o alto consumo de oxigênio, observado por eles, no tecido conjuntivo da gengiva inserida, ao intenso processo de hidroxilação desenvolvido nesse tecido predominantemente colagenoso.

Uma possível correlação entre o consumo de oxigênio e a oxidação da glicose foi postulada por Campbell (1970). Esse autor estudou o consumo de oxigênio e a utilização da glicose pelo tecido gengival em ratos diabéticos e não diabéticos, constatando que o índice da utilização de oxigênio pelo tecido gengival do rato diabético (0.27 ± 0.14 μ l/mg de tecido) foi significativamente menor, quando comparado com o tecido normal (0.33 ± 0.11). A oxidação da glicose pelos mesmos tecidos também apresenta diferenças significantes segundo o mesmo autor. O tecido normal apresentou índice mais alto na formação de CO_2 a partir da glicose.

A renovação dos componentes fundamentais do periodonto é relativamente rápida. Kofoed et al (1971) observaram que a renovação das glicosaminoglicanas se processa mais rapidamente na gengiva, quando comparada com outros tecidos, tais como a pele e a cartilagem

II.3 - Aspéctos Bioquímicos da Doença

Periodontal

É um fato conhecido que existem diferenças consideráveis na atividade e na distribuição de algumas enzimas entre o tecido periodontal clinicamente normal e o tecido inflamado, o que, obviamente, reflete diferenças palpáveis na atividade metabólica dos dois tecidos. A doença periodontal inflamatória crônica é caracterizada pela distribuição lenta progressiva do tecido conjuntivo fibroso da gengiva e do ligamento periodontal, associada com a reabsorção do osso alveolar e a infiltração leucocitária.

Durante muitos anos, prevaleceu a idêia segundo a qual a distribuição do colágeno na doença perio--dontal seria o resultado direto da ação da placa bacteriana. Entretanto, algumas evidências levaram vários pesquisadores a postular que a perda dessa substância, durante a lesão periodôntica, seria o resultado da ação de substâncias elaboradas durante a reação imunológica provocada pelos produtos bacterianos.

Esses aspéctos da doença periodontal foram intensamente debatidos durante a sessão destinada às lesões bioquímicas nas doenças periodontais, dentro da programação da 140^a Reunião Anual da Associação Americana para o Progresso da Ciência, realizada no período de 24 de fevereiro a 1 de março de 1974, em San Francisco (Dreier, 1974) . Nessa sessão, o professor Roy C. Page (University of Washington School of Dentistry - Seattle) relatou acreditar que a

placa bacteriana produz substâncias que provocam nas células imunocompetentes uma indução através da qual estas células tornam-se hipersensíveis àquelas substâncias.

Essa opinião é apoiada pelo fato de que as substâncias secretadas pelos linfócitos para neutralizar os produtos da placa bacteriana são também capazes de destruir as células das estruturas periodontais. Durante a mesma Reunião, Page apresentou dados que evidenciaram que a perda do colágeno é o resultado da ação conjunta das toxinas bacterianas e da resposta imunológica das células gengivais àqueles produtos. Aventou também a possibilidade da alteração da natureza do colágeno induzida pelas condições do tecido inflamado. Em outras palavras, as condições inflamatórias do tecido gengival podem provocar a formação de outro tipo de proteína diferente do formado habitualmente na célula, sendo essa hipótese apoiada por Page, Nimi (Marcel E. Nimi, University of Southern California's Department of Medicine and Biochemistry) e Myers (Howard M. Myers, University of the Pacific School of Dentistry).

Myer relatou que a formação desse tipo diferente de colágeno pode ser o responsável pelas condições observadas na doença periodontal, os produtos tóxicos do metabolismo bacteriano, ainda segundo Myer, não produzem, diretamente, doença periodontal, e que a lesão do tecido é o fruto da reação do hospedeiro contra a ação dos microrganismos.

A perda do osso periodontal nos tecidos inflamados pode ser atribuída aos efeitos das prostaglandinas, ácidos graxos de C_{20} contendo anel pentagonal, que exercem i números efeitos fisiológicos e farmacológicos em vários teci

dos, e que são hormônios celulares secretados em quantidades moderadas nos tecidos normais, porém sob certas condições são produzidos em grandes quantidades.

O processo inflamatório pode ser iniciado quando o epitélio do sulco gengival é ultrapassado por agentes flogógenos, os quais desencadeiam no tecido conjuntivo subepitelial uma série de eventos bioquímicos. A atuação das proteases e das collagenases no tecido conjuntivo é um dos primeiros passos da escalada inflamatória (Rapp e Orzolek, 1966). A degradação das proteínas não colagenosas e colagenosas liberta polipeptídeos de ação bastante ativa sobre a permeabilidade vascular e os processos da marginação, transmigração e migração leucocitária.

Nessa primeira fase do processo inflamatório ocorre o extravasamento de uma pequena quantidade de sêro que, quando entra em contato com as proteínas modifi cadas, proporciona o aparecimento do primeiro mediador farmacológico de inflamação (Catanzaro-Guimarães, 1975). Segundo Ward e Hill (1971) a interação dos componentes séricos com a proteína modificada pela ação da collagenases resulta na liberação da anafilatoxina, que é um forte liberador da histamina, sendo essa última considerada o primeiro mediador farmacológico da inflamação. Outras enzimas também podem ter um papel efetivo na liberação da histamina, Schwartz e Dibblee (1975) demonstraram que, além da collagenase, a protease, a tripsina e a quimotripsina participam significativamente na liberação desse mediador.

A histamina parece iniciar o processo da permeabilização vascular nas primeiras etapas da inflama-

ção, o período da ação da histamina é muito curto, segundo Ward (1971) é de apenas alguns minutos, deixando o lugar para outros mediadores, que são: bradicinina, lisil-bradicinina e metil-lisil-bradicinina que também aumentam a permeabilidade vascular já iniciada.

A fase seguinte na inflamação é a fase conhecida como prostaglandina-dependente, que abrange um período mais longo e que é caracterizada pela migração dos monócitos e linfócitos na área inflamada. A infiltração dos neutrófilos no tecido conjuntivo do epitélio do sulco gengival é um dos componentes mais importantes no processo inflamatório (Page et al, 1975). O alto teor de enzimas lisossômicas nessas células, segundo Lange e Schroeder (1972), explica a profunda atuação hidrolítica exercida sobre o tecido conjuntivo.

A presença do exsudato gengival foi aceita por vários pesquisadores como indicador objetivo para determinar a inflamação gengival (Løe e Holm-Pedersen, 1965; Oliver et al, 1969). Segundo esses autores, na vasta maioria dos casos, quando não há inflamação não há exsudato. A observação, aparentemente contraditória, de Bjorn et al (1965) e Weinstein et al (1967), segundo a qual uma pequena quantidade de fluido é sempre encontrada na gengiva considerada clinicamente sadia, pode ser explicada com base no trabalho de Kelner et al (1974). Esses autores demonstraram que a remoção completa da placa a cada 72 horas é insuficiente para evitar a inflamação gengival.

A indução do processo inflamatório pode ser desenvolvida por fatores exógenos ou endógenos. Tolo (1971)

demonstrou que o epitélio do sulco não pode ser considerado como uma barreira efetiva contra moléculas orgânicas. Segundo o autor, antígenos, enzimas, toxinas e outras proteínas de peso molecular inferior a 68.000 penetram através desse epitélio até o tecido conjuntivo e podem causar uma série de reações que levam à inflamação. Por outro lado, Rose (1973) constatou que a doença periodontal pode ser instalada após um longo período de hiperglicemia. Provocando um estado diabético, aparentemente contínuo, em animais, com o uso de aloxana e posteriormente extrato da hipófise anterior, Rose observou que a doença periodontal instalou-se após quatro anos.

Glickman et al (1949), para explicar o aumento do consumo de O_2 no tecido periodontal inflamado, sugeriram que a elevação da utilização do oxigênio nesses tecidos está associado à infiltração das células inflamatórias, à formação dos vasos sanguíneos neoformados e à proliferação dos tecidos conjuntivo e epitelial.

Várias enzimas apresentaram-se significativamente aumentadas nos tecidos inflamados; Bang et al (1970) constataram que os níveis da glicuronidase são bastante elevados no exsudato gengival. O aumento dessa enzima mostrou-se diretamente correlacionado com a profundidade das bolsas periodontais e a perda óssea. A mesma relação diretamente proporcional também foi observada entre a concentração da catepsina D no exsudato gengival e a profundidade das bolsas periodontais e a perda óssea (Ishikawa et al, 1972).

Esses dados, segundo os autores, ofereceram mais subsídios para vislumbrar a possível participação das

enzimas lisossômicas no processo patogênico das periodontites.

Mais um dado no mesmo âmbito foi fornecido por Tynelius-Bratthall e Attström (1972). Utilizando-se de gengiva cronicamente inflamada, os autores constataram a presença da fosfatase ácida, hialuronidase e protease em quantidades bem maiores que as existentes na gengiva normal.

O possível envolvimento da coenzima Q_{10} no contexto das doenças periodontais foi postulado por Littaru et al (1971). Esses autores relataram que as amostras de gengiva obtidas de pacientes com doença periodontal apresentaram, quando analisadas, níveis deficientes de coenzima Q_{10} ao serem comparadas com os dados obtidos de indivíduos normais. Esses resultados ofereceram um forte apoio às conclusões formuladas por Tsunemitsu e Matsumura - em 1967, os quais recomendaram o uso, prognosticado por eles como bastante benéfico, da coenzima Q_7 no tratamento de pacientes com doença periodontal bastante severa e destrutiva. Os efeitos benéficos da coenzima Q foram mais uma vez confirmados por Matsumura et al (1973), quando esses autores utilizaram hexahidrocoenzima Q_4 no tratamento de 13 pacientes com doença periodontal destrutiva e comprovada com sinais clínicos e radiográficos. Os resultados obtidos mostraram que a administração oral dessa forma de coenzima Q oferece melhoria significativa para os pacientes com esse tipo de doença periodontal.

As concentrações das glicosaminoglicanas e das glicoproteínas são bastante aumentadas durante o proces

so inflamatório, segundo Fehér e Jakab (1972). Esses autores atribuíram o aumento da concentração dessas substâncias a vários fatores locais. Fehér e Jakab, observando o acúmulo dos fibroblastos na área inflamada, concluíram que essas células exercem um papel importante na elevação da produção das glicosaminoglicanas e das glicoproteínas durante o processo inflamatório.

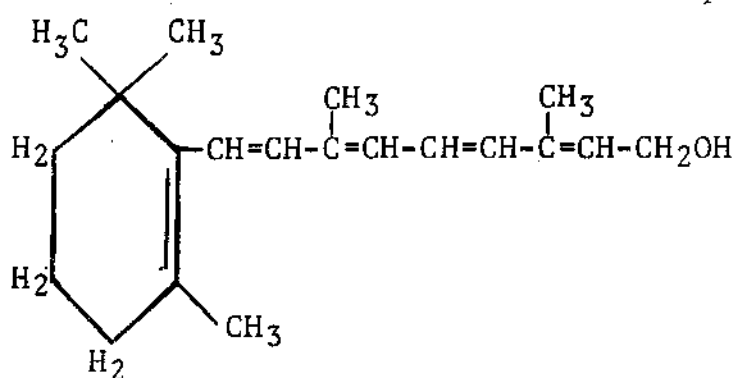
Vitamina A: Estrutura e Atuação Metabólica

A relação entre a vitamina A e os componentes principais do tecido conjuntivo foi postulada há muitos anos. Moore, em seu livro sobre Vitamina A, publicado em 1957, relatou que essa vitamina é necessária para a formação das macromoléculas que contêm glicosamina. A influência da vitamina A sobre a síntese das glicosaminoglicanas foi demonstrada por Wolf e Varandini (1960). Segundo esses autores, o processo da sulfatação parece ser o mais afetado pela vitamina A. O índice da incorporação do sulfato nos mucopolissacarídeos mostrou-se bastante reduzido em animais com deficiência da vitamina A. Esse efeito foi mais uma vez confirmado quando a adição de vitamina A aos animais deficientes foi capaz de recuperar os índices de incorporação do sulfato nas glicosaminoglicanas.

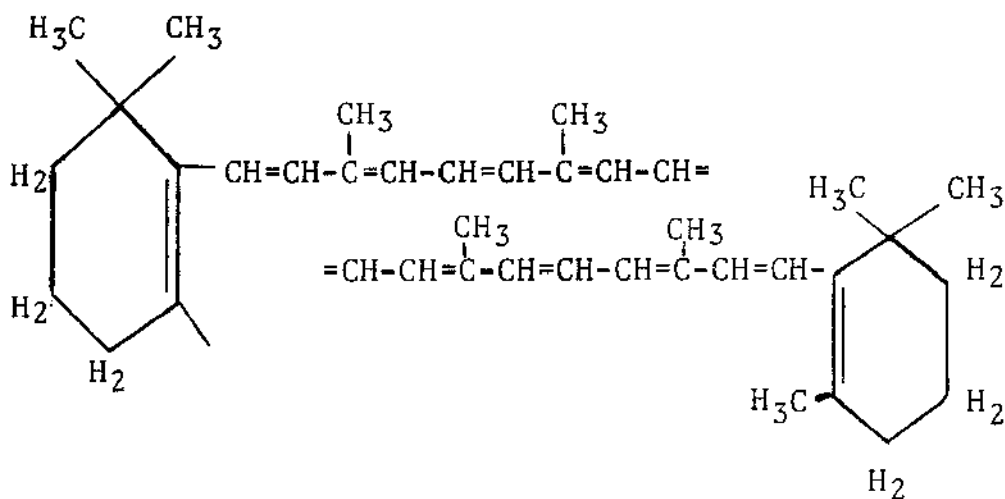
O grupo de vitamina A abrange os carotenos α , β e γ , o retinol e retinol₂ e ainda alguns outros carotenóides como a criptoxantina, observando que o valor nutritivo dos carotenos depende da sua conversibilidade em retinol.

Vários nomes são aceitos como sinônimos para a vitamina A, tais como Neovitamina A, Axeroftol (vitamina A₁) e o próprio caroteno. Outros nomes obsoletos como Biosterol, oftalamina também são usados.

A denominação química da vitamina A é 3,7 - Dimetyl-9-(2,6,6-trimetil-2-ciclohexan-1-il)-2,4,6,8-nonate traen-1-ol e sua estrutura é a seguinte:-



Vitamina A



B - Caroteno

As necessidades diárias de vitamina A foram avaliadas entre 1.500 I_μ e 8.000 I_μ sendo os valores m_i

nimo e máximo recomendados para crianças de 1 ano de idade e lactantes, respectivamente. Para ratos, esses valores são bastante reduzidos, sendo recomendado o valor de 100 Iu de vitamina A por kg de peso do animal, para proporcionar o crescimento perfeito do rato.

Além da sua participação, bastante conhecida, no processo visual, a vitamina A demonstra uma larga atuação metabólica. A deficiência dessa vitamina provoca uma paralização do crescimento esquelético, metaplasia que ratiniza nas células epiteliais de todas as estruturas e atrofia de quase todas as glândulas, resultante de bloqueio de seus ductos. O trato respiratório também é afetado e as células da medula renal apresentam calcificação, podendo ser observada a formação de cálculos renais. Os animais do sexo masculino submetidos à carência de vitamina A podem apresentar esterilidade, produzida pela atrofia do epitélio germinativo.

O estado de hipervitaminose A, considerado tóxico (Sebrell, Jr. e Harris, 1954) provoca várias alterações clínicas, como fragilidade óssea, calcificação de estruturas pericapsulares, subperiostais e ligamentosas, cefaléia, fraqueza e dermatites.

Os eventos bioquímicos ocorridos na célula na condição de hipervitaminose A foram estudados por Ram e Misra (1974). Segundo esses autores, um total de 200.000 unidades de vitamina A, administradas em quatro doses diárias de 50.000 cada, aumentam significativamente a proteína micrôssomica, RNA, os fosfolipídeos totais e fosfatidil etanolamina. Ram e Misra sugeriram que a vitamina A po

de causar proliferação do retículo endoplasmático, à semelhança do ocorrido quando os animais são tratados com fenobarbital.

Misra e seus cols., na U niversidade de Delhi, India, após uma série de experimentos, visando investigar o mecanismo de ação da vitamina A, formularam uma teoria segundo a qual a administração de doses altas de vitamina A estimula a síntese de corticóides através da ativação do córtex adrenal (Ram e Misra, 1975 a). Admitindo essa teoria como verdadeira, podemos observar dois efeitos aparentemente antagônicos da vitamina A, o primeiro representado pela ação desintegrante sobre as paredes lisossômicas, que leva por sua vez à liberação de algumas enzimas hidrolíticas; o segundo efeito é a ativação da síntese e da liberação de corticóides que, numa ação contrastante, protegem os lisossomos dos efeitos do excesso de vitamina A. Essa possível liberação dos corticóides pelo efeito da vitamina A permite atribuir a ela a vasta atuação metabólica já conhecida, dos corticoides.

O efeito da hipervitaminose A sôbre o colágeno e as glicosaminoglicanas desperta grande interesse no contexto da atuação metabólica dessa vitamina. A vitamina A, administrada em doses excessivas, provoca a destruição do colágeno. Sugeriu-se inicialmente que essa ação catabólica da vitamina é o resultado da ativação de algumas enzimas proteolíticas. Lucy, Dingle e Fell (1961), demonstraram - que a cartilagem normal de embriões contém enzimas proteolíticas capazes de remover da matriz da cartilagem a maior parte dos açúcares aminados através da destruição da proteí

na, ao qual as glicosaminoglicanas estão ligadas. O efeito dessas enzimas é bastante semelhante àquele produzido pelo excesso de vitamina A.

Uma outra hipótese atribui o efeito da vitamina A sobre o colágeno à sua ação desintegrante sobre os lisossomos. Essa teoria parece mais viável desde que a vitamina A mostrou-se sem efeito sobre a protease após a sua liberação.

A síntese das glicosaminoglicanas é ativada nos tecidos submetidos a grande concentração de vitamina A. Acredita-se que a participação da vitamina na biossíntese dos mucopolissacarídeos é realizada através da ativação da síntese de fosfoadenosina-fosfosulfato, intermediário indispensável na incorporação do sulfato nas glicosaminoglicanas sulfatadas.

Utilizaram-se no presente trabalho, ratos a dultos-jovens (*Rattus norvegicus albinus*), de peso variando entre 180-220 g., os quais foram divididos nos seguintes grupos:-

- 1)- GRUPO CONTROLE: ratos que não receberam tratamento algum.
- 2)- GRUPO TRATADO COM 15.000 UNIDADES: ratos que receberam uma dose única de 15.000 unidades de vitamina A.
- 3)- GRUPO TRATADO COM 30.000 UNIDADES: ratos que receberam 2 doses de 15.000 unidades de vitamina A, sendo uma por dia, somando um total de 30.000 unidades.
- 4)- GRUPO TRATADO COM 45.000 UNIDADES: ratos que receberam 3 doses de 15.000 unidades de vitamina A, sendo uma por dia, somando na hora do sacrifício um total de 45.000 unidades da vitamina.
- 5)- GRUPO TRATADO COM 60.000 UNIDADES: ratos que foram submetidos a 4 doses de vitamina A, recebendo uma dose de 15.000 unidades por dia, atingindo um total de 60.000 unidades da vitamina.
- 6)- GRUPO TRATADO COM 75.000 UNIDADES: ratos que receberam um total de 75.000 unidades de vitamina administradas em 5 doses, uma a cada dia, de 15.000 unidades.

Os ratos receberam água e alimento (ração - balanceada padrão "ad libitum"). A vitamina utilizada foi a vitamina A lipossolúvel da Merck, numa solução oleosa que contém 100.000 unidades. As doses da vitamina A foram administradas por via oral, por entubação, e os ratos eram sempre sacrificados 24 horas após a última dose.

Os animais eram sacrificados por traumatismo craniano removendo imediatamente a gengiva inserida, superior e inferior, a qual foi lavada em soro fisiológico e, após a secagem, pesada. Todas essas etapas, como também os passos posteriores, foram desenvolvidas em temperatura baixa, aproximadamente 4°C. Os fígados dos ratos eram também removidos e imediatamente congelados para serem utilizados na determinação do acúmulo de vitamina A. A gengiva foi homogeneizada, utilizando-se como meio de extração uma solução de Imidazol 20 mM; EDTA (Etilenodiaminotetraacetato, sal de sódio) 5 mM e Mercaptoetanol 5 mM, pH 7,2, na proporção de 2,5%. Após a homogeneização as amostras foram centrifugadas a 15.000 rpm durante 30 minutos, utilizando a centrífuga refrigerada "Sorvall - Super Speed RC 2-B").

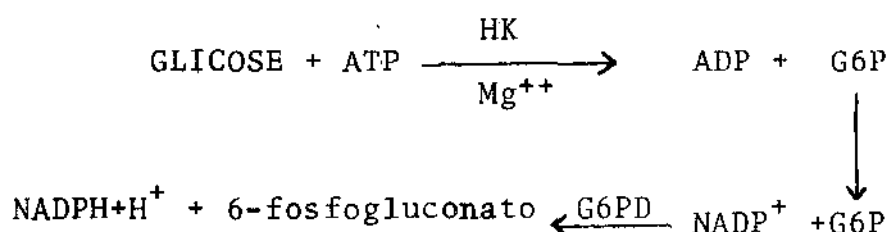
O sobrenadante, límpido e claro, foi separado e utilizado na determinação da atividade das seguintes enzimas:

- Hexoquinase (HK)
- Fosfofrutoquinase (PFK)
- Aldolase (ALD)
- Desidrogenase lática (LDH)
- Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD)
- 6-fosfogluconato desidrogenase (6PGD)

III.1 - Determinação da Hexoquinase: (ATP:D-hexose-6-fosfotransferase, E.C. 2.7.1.1.)

O método utilizado na determinação dessa enzima foi aquele descrito por Uyeda & Racker (1965) na qual utiliza-se um meio de reação contendo: tampão imidazal 50 mM pH 7.2; $MgCl_2$ 5 mM; ATP 5 mM; glicose 1 mM; $NADP^+$ 0,4 mM e 0,3 unidades da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase.

Uma série de reações acopladas se inicia pela fosforilação da glicose formando glicose-6-fosfato; esse último composto é transformado sob a ação da glicose-6-fosfato desidrogenase em 6-fosfogluconato numa reação que implica na redução de $NADP^+$ produzindo $NADPH + H^+$.

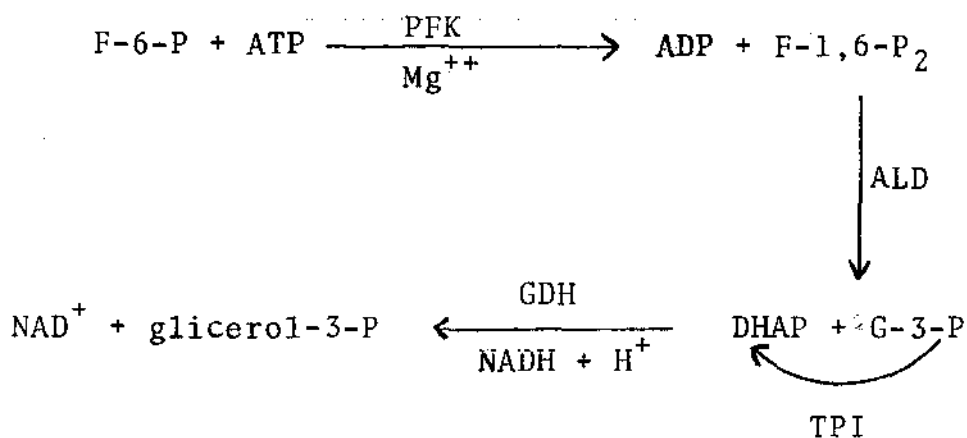


III.2 - Determinação da fosfofrutoquinase:
(ATP:D-Fructose 6-fosfato 1-fosfo-
transferase, E.C. 2.7.1.11)

Na determinação da atividade da fosfofrutoquinase seguiu-se o método descrito por Mansour (1963), utilizando um meio de reação contendo: tampão Imidazal 50 mM pH 7.4; EDTA 2 mM; $MgCl_2$ 0,2 mM; ATP 0,5 mM; F6P 0,05 mM; NADH 0,65 mM; ALD 0,4 unidades; GDH 0,08 unidades-

e TPI 0,08 unidades.

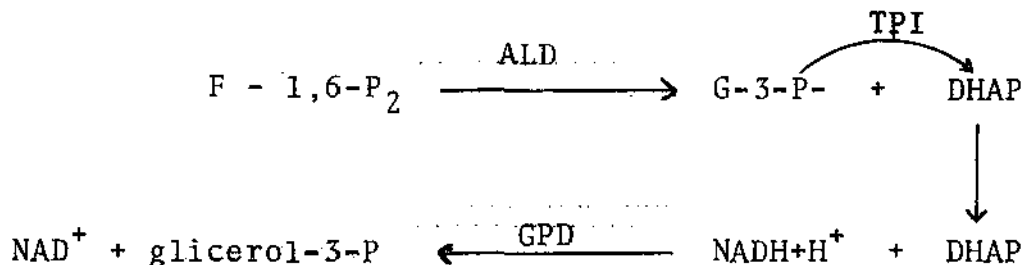
Observa-se que a determinação da frutose-1,6-difosfato depende de tres enzimas auxiliares, são elas:- aldolase, triofosfato isomerase e α -glicerofosfato desidrogenase. A formação do $\text{NADH} + \text{H}^+$ é o resultado das seguintes reações:



III.3 - Determinação da Aldolase: (Cetose-1-fosfato aldeido-liase, E.C. 4.1.2.7)

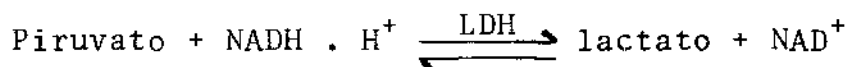
A técnica da determinação da aldolase utilizada nesse trabalho foi preconizada por Bergmeyer (1974), o meio da reação contém: tampão trietanolamina 50 mM pH 7.6; EDTA 10 mM; NADH 1,0 mM; frutose-1,6-difosfato 0,15 mM e 10 μg de cada uma das enzimas auxiliares, triofosfato isomerase e glicerofosfato desidrogenase. O método depende de uma reação acoplada onde a frutose-1,6-difosfato é cindida pela aldolase em gliceraldeido-3-fosfato e diidroxiacetona fosfato; o primeiro composto é transformado pela triofosfato isomerase em diidroxiacetona fosfato que

por sua vez é reduzido em glicerol-3- α -fosfato numa reação catalizada pela glicerofosfato desidrogenase.



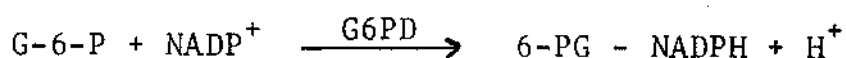
III.4 - Determinação da Desidrogenase lática: (L-lactato:NAD oxidoreductase, E. C. 1.1.1.27)

Segundo o método descrito por Bergmeyer (1974), o meio da reação utilizado para determinação da desidrogenase láctica foi composto de: tampão fosfato 50 mM pH 7.5; piruvato 0,63 mM e NADH 11,3 mM.



III.5 - Determinação da glicose-6-fosfato - desidrogenase: (D-glicose-6-fosfato; NADP-1-oxidoreductase, E.C.1.1.1.49)

Utilizou-se para determinar a atividade da G6PD o método descrito por Eggleston & Krebs (1974), o meio de reação composto de:- tampão glicilglicina 50 mM pH 7.6; MgCl₂ 3,3 mM; NADP 0,10 mM e G-6-P 1,33 mM. O processo depende de uma reação simples onde NADPH + H⁺ é produzido.



III.6 - Determinação da 6-fosfogluconato de
sidrogenase: (D-6-fosfogluconato: -
NADP-1-oxidoreductase, E.C.1.1.1.44)

A atividade dessa enzima foi também determinada pelo mesmo método utilizando um meio contendo: tampão glicilglicina 50 mM pH 7.6; MgCl_2 3,3 mM; NADP 0,10 mM e 6-fosfogluconato 1,36 mM a reação é baseada na ação da enzima sobre a 6-PG e a subsequente formação de $\text{NADPH} + \text{H}^+$.

A proteína foi determinada segundo o método de Lowary et al (1951) utilizando albumina bovina (Sigma)-como padrão. 50 a 100 μl do extrato foram completados para 1 ml com água destilada, adicionou-se 5 ml da mistura reativa a cada tubo e depois de 10 minutos adicionou-se 0,5 ml do reativo de Folin-Ciocalteu diluído (1 para 2 com água destilada). Os tubos foram deixados em repouso durante 30 minutos procedendo-se depois a leitura a 660 nm em um espectrofotômetro Beckman DB-G usando-se uma cubeta de quartzo de 1 ml de capacidade e de 1 cm de espessura.

A vitamina A foi determinada pelo método de Ames et al (1954) com algumas adaptações.

Uma porção de 0,4 g de tecido hepático foi triturada com 1,6 g de sulfato de sódio anidro até tornar-se completamente seco. O pó foi transferido quantitativamente para um erlenmeyer de 125 ml onde foi misturado com 10 ml

de eter etílico agitando-se durante 2 minutos. Após centrifugar a mistura a 5000 rpm durante 10 minutos uma aliquota de 0,2 ml da fração do éter foi transferida a um tubo de ensaio onde foi permitido que o éter seja totalmente eliminado por evaporação; o resíduo foi dissolvido em 1 ml de clorofórmio transferindo-se uma aliquota de 0,1 ml para uma cubeta onde foi adicionado 2 gotas de anidrico acético e 2 ml de uma solução saturada de tricloreto de antimônio. A leitura foi efetuada imediatamente no espectrofotômetro Beckman DB-G utilizando-se uma cubeta de 3 ml de capacidade e 1 cm de espessura.

IV - RESULTADOS

A atividade das enzimas estudadas neste trabalho foi determinada em $\mu\text{u}/\text{mg}$ de proteínas e μ/g de tecido fresco. Os valores individuais das atividades da hexoquinase, fosfofrutoquinase, aldolase, desidrogenase lática, glicose-6-fosfato desidrogenase e 6-fosfogliconato desidrogenase são apresentados nas tabelas (A-14-A-19); (A-20-A-25) (A-26-A-31); (A-32-A-37); (A-38-A-43) e (A-44-A-49), respectivamente, encontradas no apêndice.

Os valores das médias da atividade de cada enzima nas diferentes dosagens utilizadas de vitamina A, são apresentadas nas tabelas (1) e (2). Nessas tabelas observa-se também os valores do desvio padrão e o número de amostras utilizadas.

A análise estatística foi efetuada empregando-se os seguintes testes:-

- a) teste "t" de Student
- b) análise de regressão linear
- c) coeficiente de correlação

Na aplicação do teste "t" foram comparadas as médias obtidas para cada enzima, nas várias concentrações de vitamina A aplicadas, entre si calculando g (grau de liberdade) de acordo com a formula:

$$g = \frac{\left[\frac{s_x^2}{n_x} + \frac{s_y^2}{n_y} \right]^2}{\frac{\left(\frac{s_x^2}{n_x} \right)^2}{n_x + 1} + \frac{\left(\frac{s_y^2}{n_y} \right)^2}{n_y + 1}} - 2$$

Os valores de "t" obtidos da análise estatística das médias da atividade da Hexoquinase nas várias dosagens utilizadas de vitamina A (tabela 3) demonstraram que a atividade específica (μ /mg de proteína) dessa enzima foi significativamente maior nos ratos que receberam 15.000, 30.000, 45.000, 60.000 e 75.000 μ de vitamina A quando comparadas com os animais controle. A maior dose aplicada nesse trabalho, 75.000 μ , apresentou um efeito significativamente maior que todas as outras concentrações aplicadas. Nessa mesma tabela observa-se que não há diferença estatisticamente significativa entre as médias da atividade enzimática calculada em μ /g de tecido fresco.

A tabela 4 apresenta os valores de "t" e g relativos à análise estatística das médias obtidas da atividade enzimática da fosfofrutoquinase em μ /mg de proteína e μ /g de tecido fresco. Observa-se uma diferença significativa entre a atividade da enzima nos ratos tratados e os animais controle. Observa-se também que a atividade específica da enzima nos ratos com 75.000 μ de vitamina A apresentam atividade estatisticamente superior aos animais de todos os outros grupos.

As médias da atividade enzimática calculadas em μ /g de tecido fresco nos animais tratados com 15.000, 30.000 e 45.000 μ de vitamina A apresentaram valores significativamente diferentes do controle.

Na determinação da atividade enzimática da aldolase, observou-se que todas as concentrações de vitamina A administradas, induziram um aumento significativo na atividade dessa enzima, tanto em μ /mg de proteína, bem -

como em μ /g de tecido fresco (tabela 5). A administração - de 75.000 μ de vitamina A produziu também nessa enzima, um efeito estatisticamente superior às outras dosagens empregadas. Observa-se ainda na mesma tabela, que os animais que receberam 30.000, 45.000 e 60.000 unidades de vitamina apresentaram atividade enzimática da aldolase significativamente maior que os animais tratados com 15.000 μ .

A análise da tabela 6 demonstra que somente as doses altas provocaram uma alteração significativa na atividade da desidrogenase láctica, a dose de 75.000 unidades de vitamina A apresentam mais uma vez o maior efeito sobre a atividade dessa enzima.

A administração de 15.000 μ de Vitamina A - não altera significativamente a atividade enzimática da glicose-6-fosfato desidrogenase (tabela 7). A alteração significativa na atividade dessa enzima foi observada nos animais tratados com doses iguais ou superior a 30.000 de vitamina, tanto em $m\mu$ /mg de proteína bem como em μ /g de tecido fresco. Observa-se, também na tabela 7, que a atividade da G-6PD somente foi significativamente maior nos animais controle e aqueles que receberam 15.000 e 30.000 μ de vitamina A.

A análise estatística dos dados obtidos na determinação da atividade enzimática da 6-fosfogliconato - desidrogenase, apresentada na tabela 8, revela um aumento significativo da atividade dessa enzima nos ratos tratados com vitamina A quando comparados com o controle, seja em $m\mu$ /mg de proteína ou seja em μ /g de tecido fresco.

Foi estudado também neste trabalho a rela-

ção entre a glicose-6-fosfato desidrogenase e a fosfofrutoquinase nos animais controle e nos tratados com vitamina A. O aumento relativamente crescente da G-6-PD/PFK é facilmente observada nas tabelas (9) e (10).

Tendo em vista que a aldolase é uma enzima representativa da via glicolítica (Lowry e Passonneau, 1964) realizou-se uma comparação entre as médias da atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase e da aldolase a fim de estabelecer uma idéia sobre o ritmo do funcionamento dessas vias no tecido periodontal, a relação G6PD/ALD é apresentada nas tabelas (11) e (12).

A natureza da relação estatística entre os valores da atividade enzimática e as concentrações administradas de vitamina A, foi estudada através do cálculo da regressão linear e o coeficiente de correlação (r). As tabelas (A-1 - A-12) apresentam as médias da atividade enzimática, desvio padrão, coeficiente de variação, constantes da equação de regressão linear e coeficiente de correlação de cada enzima.

A fim de comprovar o acúmulo de vitamina A, determinou-se a concentração dessa vitamina, em $\mu\text{g/g}$ de tecido fresco tanto no fígado dos animais controle como nos tratados utilizados durante o experimento (tabela A-13).

TABELA 1 - Atividade enzimática da Hexoquinase (HK), Fosfofrutoquinase (PFK), Aldolase (ALD), Lático desidrogenase (LDH), Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e 6-fosfogluconato desidrogenase (6PGD) expressa em $\mu\text{u}/\text{mg}$ de proteína de tecido gengival de ratos submetidos às várias doses de vitamina A.

Média $\pm$ desvio padrão e número de indivíduos em parenteses.

Enzima	Vitamina A (i.u)					
	Controle	15.000	30.000	45.000	60.000	75.000
HK	38,2966 $\pm$ 6,5589 (8)	68,7331 $\pm$ 15,9268 (10)	73,2444 $\pm$ 17,6577 (10)	69,8084 $\pm$ 15,4697 (10)	69,2081 $\pm$ 9,6447 (10)	96,4438 $\pm$ 14,9175 (10)
PFK	66,8673 $\pm$ 2,0819 (8)	83,9051 $\pm$ 4,4098 (8)	87,2878 $\pm$ 6,3274 (8)	84,4632 $\pm$ 9,2548 (10)	89,6257 $\pm$ 5,5168 (9)	101,5927 $\pm$ 7,9234 (10)
ALD	24,4068 $\pm$ 3,0987 (12)	39,8833 $\pm$ 5,6601 (12)	44,2462 $\pm$ 3,4784 (10)	46,9761 $\pm$ 2,0104 (10)	47,7479 $\pm$ 3,7619 (10)	65,2396 $\pm$ 9,3981 (8)
LDH	874,6892 $\pm$ 73,4371 (10)	1184,5720 $\pm$ 325,9648 (8)	935,7128 $\pm$ 240,2507 (8)	1006,5700 $\pm$ 165,1651 (12)	1087,8380 $\pm$ 218,6518 (10)	1539,2440 $\pm$ 220,7720 (10)
G6PD	110,3312 $\pm$ 8,9774 (11)	133,7123 $\pm$ 44,3097 (8)	173,0521 $\pm$ 32,0316 (8)	171,1168 $\pm$ 45,0543 (8)	181,8688 $\pm$ 38,7136 (8)	225,9630 $\pm$ 39,2920 (8)
6PGD	40,7544 $\pm$ 9,1945 (11)	63,3624 $\pm$ 9,5847 (8)	68,5411 $\pm$ 11,0204 (9)	63,7845 $\pm$ 11,6657 (8)	66,7270 $\pm$ 6,7918 (10)	72,1070 $\pm$ 10,7406 (8)

TABELA 2 - A atividade enzimática da Hexoquinase (HK), Fósfofrutoquinase (PFK), Aldolase (ALD), Lático desidrogenase (LDH), Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), e 6-fosfogliconato desidrogenase (6PGD), expressa em μ /g de tecido fresco de gengiva de ratos submetidos a várias doses de vitamina A.

Média $\pm$ desvio padrão e número de indivíduos em parenteses.

Enzima	Vitamina A (i.u)					
	Controle	15.000	30.000	45.000	60.000	75.000
HK	1,3111 $\pm$ 0,2789 (8)	1,2238 $\pm$ 0,1952 (10)	1,3968 $\pm$ 0,2904 (10)	1,3309 $\pm$ 0,2035 (10)	1,2933 $\pm$ 0,1114 (10)	1,4836 $\pm$ 0,2766 (10)
PFK	1,2587 $\pm$ 0,0951 (8)	1,5978 $\pm$ 0,2293 (8)	1,6844 $\pm$ 0,2036 (8)	1,5844 $\pm$ 0,2495 (10)	1,5777 $\pm$ 0,4192 (9)	1,6423 $\pm$ 0,4710 (10)
ALD	0,4872 $\pm$ 0,0711 (12)	0,6615 $\pm$ 0,1358 (12)	0,7982 $\pm$ 0,2065 (10)	0,8694 $\pm$ 0,1466 (10)	0,9486 $\pm$ 0,2005 (10)	1,0360 $\pm$ 0,2889 (8)
LDH	18,1341 $\pm$ 2,2634 (10)	18,7475 $\pm$ 6,0952 (8)	17,8316 $\pm$ 5,1822 (8)	19,0601 $\pm$ 5,5849 (12)	19,7956 $\pm$ 1,9979 (10)	24,8178 $\pm$ 4,1633 (10)
G6PD	2,3051 $\pm$ 0,2078 (11)	2,2583 $\pm$ 0,4639 (8)	3,2394 $\pm$ 0,3668 (8)	3,1280 $\pm$ 0,4038 (8)	3,2944 $\pm$ 0,5535 (8)	3,7445 $\pm$ 0,6591 (8)
6PGD	0,8445 $\pm$ 0,1867 (11)	1,1776 $\pm$ 0,1906 (8)	1,3528 $\pm$ 0,1726 (9)	1,1943 $\pm$ 0,2164 (8)	1,2346 $\pm$ 0,1661 (10)	1,1243 $\pm$ 0,1238 (8)

TABELA 3 - Valores de t obtidos através da análise estatística dos valores da atividade enzimática da Hexoquinase em μmg de proteína e $\mu\text{/g}$ de tecido fresco, de gengiva de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.
g em parenteses

μ de Vitamina A Administrada	Controle	15.000	30.000	45.000	60.000	75.000
Controle	-x-x-x-x-	0,750 (13)	- 0,636 (17)	- 0,168 [*] (14)	0,170 (9)	- 1,309 (17)
15.000	* - 5,489 (13)	-x-x-x-x-	- 1,563 (17)	- 1,201 (20)	- 0,978 (15)	- 2,427 (18)
30.000	* - 5,780 (13)	- 0,600 (20)	-x-x-x-x-	0,588 (18)	1,052 (12)	- 0,684 (20)
45.000	- 5,821 (13)	- 0,153 (20)	0,463 (20)	-x-x-x-x-	0,513 (15)	- 1,406 (18)
60.000	* - 8,068 (17)	- 0,081 (16)	0,634 (15)	0,104 (16)	-x-x-x-x-	- 2,018 (12)
75.000	* -11,062 (14)	* - 4,016 (20)	* 3,174 (19)	* - 3,919 (20)	* - 4,848 (17)	-x-x-x-x-

A

A - μg /mg de proteína

B - $\mu\text{/g}$ de tecido fresco

* Significante a nível de 1%

TABELA 4 - Valores de t obtidos através da análise estatística dos valores da atividade enzimática da fosfofrutoquinase, em $\mu\text{p/mg}$ de proteína e μ/g de tecido fresco da gengiva de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

g em parenteses

μ de Vitamina A Administrada	Controle	15.000	30.000	45.000	60.000	75.000
Controle	-x-x-x-	* - 3,864 (10)	* - 5,358 (11)	* - 3,798 (13)	- 2,220 (9)	- 2,512 (10)
15.000	* - 9,88 (11)	-x-x-x-	- 0,799 (16)	0,118 (18)	0,124 (14)	- 0,262 (15)
30.000	* - 8,67 (9)	- 1,240 (14)	-x-x-x-	0,936 (18)	0,679 (13)	0,254 (14)
45.000	* - 5,83 (10)	- 0,168 (15)	0,767 (17)	-x-x-x-	0,042 (14)	- 0,344 (15)
60.000	* - 11,49 (11)	- 2,370 (17)	- 0,807 (16)	- 1,494 (16)	-x-x-x-	- 0,316 (19)
75.000	* - 13,30 (11)	* - 5,990 (16)	* - 4,258 (18)	* - 4,446 (19)	* - 3,850 (18)	-x-x-x-

A

A - $\mu\text{p/mg}$ de proteína

B - μ/g de tecido Fresco

* Significante a nível de 1%

TABELA 5 - Os valores de t obtidos através da análise estatística dos valores da atividade enzimática da Aldolase, expressos em μ /mg de proteína e μ /g de tecido fresco em gengiva de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

g em parenteses

μ de Vitamina A Administrada	Controle	15.000	30.000	45.000	60.000	75.000
Controle	-x-x-x-	* - 3,939 (18)	* - 4,543 (20)	* - 7,539 (13)	* - 6,923 (11)	* - 5,268 (18)
15.000	* - 8,308 (18)	-x-x-x-	- 1,795 (16)	* - 3,424 (21)	* - 3,851 (17)	* - 3,423 (10)
30.000	* -13,993 (23)	- 2,215 (20)	-x-x-x-	- 0,889 (18)	- 1,652 (20)	- 1,962 (14)
45.000	* -20,566 (21)	* - 4,046 (15)	- 2,149 (16)	-x-x-x-	- 1,008 (18)	- 1,485 (11)
60.000	* -15,816 (19)	* - 3,990 (21)	- 2,285 (20)	- 0,720 (15)	-x-x-x-	- 0,727 (13)
75.000	* -11,866 (18)	* - 6,848 (11)	* - 5,998 (9)	* - 5,399 (8)	* - 4,900 (9)	-x-x-x-

B

A

A - μ /mg de proteína

B - μ /g de tecido fresco

*Significante a nível de 1%

TABELA C - Os valores de t obtidos através da análise estatística dos valores da atividade enzimática da Desidrogenase lática, expressos em $\mu\text{u}/\text{mg}$ de proteína e μ/g de tecido fresco, em gengiva de ratos submetidos à várias doses de Vitamina A.

g em parenteses

μ de Vitamina A Administrada	Controle	15.000	30.000	45.000	60.000	75.000
Controle	-x-x-x-	- 0,270 (9)	0,484 (10)	- 0,525 (16)	- 1,740 (20)	* - 4,460 (15)
15.000	- 2,636 (18)	-x-x-x-	0,324 (16)	- 0,116 (11)	- 0,467 (9)	- 2,404 (13)
30.000	- 0,693 (8)	1,738 (15)	-x-x-x-	- 0,503 (18)	- 1,013 (9)	* - 3,097 (15)
45.000	- 2,475 (13)	1,427 (14)	- 0,727 (18)	-x-x-x-	- 0,425 (15)	- 2,766 (22)
60.000	- 2,922 (11)	0,720 (13)	- 1,389 (16)	- 0,968 (22)	-x-x-x-	* - 3,439 (14)
75.000	* - 9,032 (11)	- 2,632 (13)	* - 5,489 (16)	* - 6,301 (22)	* - 4,594 (20)	-x-x-x-

A

A - $\mu\text{u}/\text{mg}$ de proteína

B - μ/g de tecido fresco

*Significante a nível de 1%

TABELA 7 - Os valores de t obtidos através da análise estatística dos valores da atividade enzimática da Glicose-6-fosfato desidrogenase, expressos em $\mu\mu$ /mg de proteína e μ /g de tecido fresco, em gengiva de ratos submetidos a várias doses de Vitamina A.
g em parenteses

μ de Vitamina A Administrada	Controle	15.000	30.000	45.000	60.000	75.000
Controle	-x-x-x-	0,267 (10)	* - 6,487 (11)	* - 5,278 (10)	* - 4,815 (9)	* - 5,965 (8)
15.000	- 1,471 (8)	-x-x-x-	* - 4,693 (15)	* - 4,000 (16)	* - 4,058 (15)	* - 5,216 (14)
30.000	* - 5,387 (8)	- 1,973 (14)	-x-x-x-	0,578 (16)	- 0,234 (14)	- 1,894 (12)
45.000	* - 3,762 (8)	- 1,674 (16)	- 0,099 (14)	-x-x-x-	- 0,687 (14)	- 2,256 (13)
60.000	* - 5,127 (8)	- 2,315 (16)	- 0,496 (15)	- 0,609 (16)	-x-x-x-	- 1,479 (15)
75.000	* - 8,170 (8)	* - 4,406 (16)	* - 3,273 (15)	2,595 (16)	- 2,261 (16)	-x-x-x-

A

A - $\mu\mu$ /mg de proteína
B - μ /g de tecido fresco

*Significante a nível de 1%

TABELA 8 - Os valores de t obtidos através da análise estatística dos valores da atividade enzimática da 6-fosfogluconato desidrogenase, expressos em $m\mu$ /mg de proteína e μ /g de tecido fresco, em gengiva de ratos submetidos a várias doses de Vitamina A.
g em parenteses

μ de Vitamina A Administrada	Controle	15.000	30.000	45.000	60.000	75.000
Controle	-x-x-x-	* - 3,794 (17)	* - 6,312 (20)	* - 3,683 (12)	* - 5,059 (21)	* - 3,924 (19)
15.000	* - 5,164 (17)	-x-x-x-	- 1,977 (16)	- 0,164 (13)	- 0,667 (16)	- 0,663 (13)
30.000	* - 6,041 (17)	- 1,036 (17)	-x-x-x-	1,656 (12)	1,517 (19)	* 3,161 (16)
45.000	- 2,901 (14)	1,753 (15)	2,667 (16)	-x-x-x-	- 0,434 (11)	0,794 (10)
60.000	* - 7,406 (20)	- 0,839 (14)	0,426 (14)	- 2,813 (13)	-x-x-x-	1,613 (18)
75.000	* - 6,668 (15)	- 1,718 (16)	- 0,675 (17)	* - 3,287 (16)	- 1,233 (12)	-x-x-x-

A

A - $m\mu$ /mg de proteína

B - μ /g de tecido fresco

*Significante a nível de 1%

TABELA 9 - A relação entre a atividade enzimática da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e fosfofrutoquinase (PFK), expressa em mμ/mg de proteína, em tecido gengival de ratos submetidos a várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	G6PD	PFK	G6PD/PFK
Controle	110,3312	66,8673	1,65
15.000	133,7123	83,9051	1,59
30.000	173,0521	87,2878	1,98
45.000	171,1168	84,4632	2,03
60.000	181,8688	89,6257	2,03
75.000	225,9630	101,5927	2,22

TABELA 10 - A relação entre a atividade enzimática da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e fosfofrutoquinase (PFK), expressa em μ /g de tecido fresco, em tecido gengival de ratos submetidos à várias doses de Vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	G6PD	PFK	G6PD/PFK
Controle	2,3051	1,2587	1,83
15.000	2,2582	1,5978	1,41
30.000	3,2394	1,6844	1,92
45.000	3,1280	1,5844	1,97
60.000	3,2944	1,5777	2,09
75.000	3,7445	1,6423	2,28

TABELA 11 - A relação entre a atividade enzimática da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e Aldolase (ALD), expressa em mμ/mg de proteína, em tecido gengival de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	G6PD	ALD	G6PD/ALD
Controle	110,3312	24,4068	4,5205
15.000	133,7123	39,8833	3,3526
30.000	173,0521	44,2462	3,9111
45.000	171,1168	46,9761	3,6426
60.000	181,8688	47,9479	3,7931
75.000	225,9630	65,2396	3,4636

TABELA 12 - A relação entre a atividade enzimática da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e aldolase (ALD), expressa em μ /g de proteína, em tecido-gengival de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	G6PD	ALD	G6PD/ALD
Controle	2,3051	0,4872	4,7313
15.000	2,2582	0,6615	3,4138
30.000	3,2394	0,7982	4,0584
45.000	3,1280	0,8694	3,5979
60.000	3,2944	0,9486	3,4729
75.000	3,7445	1,0360	3,6144

V - DISCUSSÃO

As informações acumuladas sôbre a atuação metabólica da Vitamina A evidenciam que essa vitamina exerce um papel ativo em, pelo menos, três processos fundamentais: primeiramente no processo visual como retinenas; em segundo lugar na reprodução onde a forma alcolica de vitamina A é requerida enquanto o ácido retinoico é inadequado; e por último a vitamina A apresenta um modo sistêmico de ação abrangendo todas as outras atividades que requerem a participação dessa vitamina (Pitt e Morton, 1962).

A ação sistêmica da vitamina A foi intensamente estudada por vários autores, assim Wolf et al (1961) demonstraram que em preparações de animais deficientes em vitamina A, a incorporação da glicose nas glicosaminoglicanas é bastante reduzidos em relação aos animais controle, os resultados do Wolf et al, associados aos obtidos por Wolf e Varandini (1960), segundo os quais a incorporação do sulfato também é reduzida nesses animais, permitem supor um papel atuante dessa vitamina na biossíntese dos mucopolissacarídeos.

Segundo Lucy et al (1961), a adição de vitamina A à cultura de tecidos (cartilaginosos) reduz sensivelmente a metacromasia, indicando com isso uma destruição rápida da matriz colagenosa. A obtenção de efeitos semelhantes com o uso da papaina ofereceu subsídios para a hipótese segundo a qual a vitamina A estimula a atividade de várias enzimas celulares, uma delas provavelmente a papaina, o que resulta na degradação do componente estrutural proteico da matriz da cartilagem e a subsequente perda das glicosaminoglicanas. O efeito da hipervitaminose A é

provavelmente realizado por meio de um sistema enzimático proteolítico presente na cartilagem e que elimina os açúcares aminos através da destruição da proteína à qual esses açúcares estão ligados.

A elevada produção do ácido lático na presença de doses altas de vitamina A foi relatada por Dingle et al (1961). Esse aumento do ácido lático sugere uma ativação da via glicolítica induzida pelo excesso da vitamina A. Ao por à prova essa hipótese, verificou o autor uma aceleração do catabolismo da glicose pela via glicolítica nos animais submetidos a hipervitaminose A. A análise dos experimentos sumariados nas tabelas (1) e (2), mostram, claramente, que a atividade específica da Hexoquinase, Fosfofrutoquinase e da Aldolase foram aumentados nos ratos tratados. Comparando estatisticamente todos os grupos de ratos submetidos à várias doses de vitamina A (15.000, 30.000, 45.000, 60.000 e 75.000 Iu) com os animais controle, verificou-se que a atividade dessas três enzimas, em todos os grupos tratados, foi significativamente maior que os ratos normais, tabelas (3-5).

A maior parte da glicose celular é encontrada na forma fosforilada. A adição do fosfato ao carbono 6 da glicose para formar a glicose-6-fosfato é uma reação catalizada pela Hexoquinase.



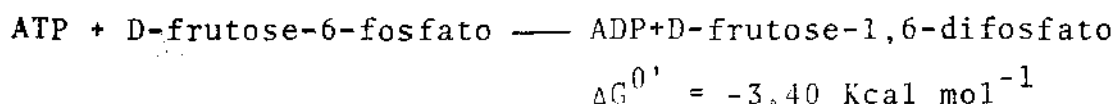
$$\Delta G^{0'} = -4.0 \text{ Kcal mol}^{-1}$$

A hexoquinase é largamente distribuída nas células, a sua ação catalizadora abrange também a fosfori

lação de outras hexoses, tais como D-frutose, D-manose e D-glicosamina, embora demonstra maior afinidade pelas aldohexoses. A hexoquinase é uma enzima reguladora, inibida pelo acúmulo do seu próprio produto, a glicose-6-fosfato. O sistema hexoquinase, portanto, determina e limita os processos metabólicos da utilização da glicose nas células componentes dos tecidos epiteliais dos primatas (Bergquist e Nuki, 1973a).

A atividade específica da hexoquinase apresentou um aumento proporcional ao aumento da dose administrada de vitamina A. Tendo em vista que a ação dessa enzima é o passo inicial de várias vias metabólicas que envolvem a glicose, tais como a síntese do glicogênio, glicólise e a via pentose-fosfato, o aumento da atividade da hexoquinase não pode indicar a aceleração de qualquer uma delas especificamente. A adaptação de ajuste da função linear através do cálculo do coeficiente de correlação não favoreceu o uso de linha reta para relacionar a atividade da hexoquinase com as concentrações utilizadas de vitamina A (tabelas A-1 e A-7).

A fosfofrutoquinase é a enzima responsável por um dos dois passos primordiais da glicólise, isto é, os passos que requerem ATP. Na reação catalizada pela fosfofrutoquinase a frutose-6-fosfato é mais uma vez fosforilada na posição 1 para formar frutose-1,6-difosfato numa reação que necessita, além do ATP, da Mg^{2+} , provavelmente porque o substrato real é o $Mg\ ATP^{2-}$.



A fosforilação da frutose-6-fosfato é o ponto de controle mais importante na sequência glicolítica.

A atividade específica da fosfofrutoquinase foi significativamente aumentada nos ratos tratados com vitamina A. A concentração da mesma enzima calculada em μ /g de tecido fresco não apresentou qualquer alteração significativa nos ratos tratados com vitamina A, o que afasta a hipótese da indução da síntese enzimática sob a ação da vitamina. A elevação da atividade específica da fosfofrutoquinase pode ser induzida pelo aumento relativo do substrato resultante da aceleração da via glicolítica.

Uma outra hipótese sugere que as concentrações da glicose, glicose-6-fosfato e frutose-6-fosfato na célula são aumentadas quando o metabolismo aeróbico é ativado. A atividade das enzimas do ciclo de Krebs é, normalmente, bastante elevada no periodonto. Charreau et al (1965) determinaram a atividade específica da fumarase, aconitase, desidrogenase malica e desidrogenase isocítrica em tecidos periodontais. Com base na grande atividade enzimática observada por eles, Charreau e cols. concluíram que essa intensa atividade oxidativa no periodonto deve mobilizar uma grande quantidade de metabólitos e conseqüentemente deve induzir a ativação de outras vias metabólicas.

As conclusões de Charreau et al oferecem um forte apoio aos resultados obtidos neste trabalho. O aumento da atividade das enzimas envolvidas no metabolismo da glicose, constatado pelo autor e apresentado nas tabelas (1) e (2) pode ser explicado como expressão da ativação da via glicolítica resultante da estimulação do metabolismo aeróbi

co por efeito de vitamina A.

Vários relatos da literatura falam a favor dessa hipótese, assim Baume et al (1970) descreveram que a administração de altas doses de vitamina A aumenta a atividade enzimática da desidrogenase succínica nas células basais, onde o metabolismo é predominantemente aeróbico (Shahrik et al, 1964; Franquin et al, 1970).

Um outro aspecto de grande importância nesse contexto é relacionado com o aumento do consumo de oxigênio nos tecidos inflamados. Esse fato foi relatado por Glickman et al (1949) e Nakamura et al (1973). A semelhança dos efeitos do excesso de vitamina A, com os eventos ocorridos durante a inflamação sugere que o consumo de oxigênio é aumentado na hipervitaminose A. O aumento de QO_2 e da citocroma oxidase na gengiva, segundo Fine et al (1974), reflete o aumento da síntese do ATP mitocondrial necessário para sustentar a ativação da síntese de DNA, a mitose e a diferenciação celular. Essa hipótese torna-se bastante solidificada com base nos trabalhos de Lawrence e Bern (1958) e Ram e Misra (1974). Esses últimos autores postularam que a vitamina A pode induzir a uma proliferação do retículo endoplasmático. O aumento da atividade mitótica nos epidermis de ratos tratados com excesso de vitamina A foi relatado por Lawrence e Bern (1958) e confirmado em tecidos orais por Franquin et al (1970).

Admitindo essa hipótese como verdadeira teremos subsídios para compreender o aumento significativo da atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase e da 6-fosfogliconato desidrogenase, constatado pelo autor, no período

to dos ratos tratados com vitamina A (tabelas 7 e 8). Outro achado importante foi a constatação de uma relação diretamente proporcional da atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase com as dosagens administradas da vitamina A. O cálculo do coeficiente de correlação apresentou valores próximos de 1 indicando a referida proporcionalidade (tabelas A-5 e A-11).

A ativação da via pentose-fosfato, demonstrada através do aumento da atividade da G6PD é plenamente admissível em vista do exposto acima. A participação dessa via no metabolismo da glicose nos tecidos periodontais foi relatada por vários autores (Simpson, 1970; Bergquist e Nuki, 1973b). Segundo Simpson, uma das funções mais importantes do ciclo das pentoses no tecido é o fornecimento de NADP reduzidos para os processos de biossíntese. A produção de pentoses é, obviamente, uma outra função fundamental dessa via.

A relação entre a atividade da glicose-6 - fosfato desidrogenase (G6PD) e da fosfofrutoquinase (PFK) é de maior importância para avaliar a potencialidade relativa das vias pentose fosfato e glicolítica (Shunk e Boxer, 1964). A relação G6PD/PFK para os animais controle, obtida nesse trabalho, foi de 1,65 (tabela 9), indicando assim a predominância da atividade da via pentose fosfato sobre a glicólise.

Esses resultados são aparentemente discrepantes com os dados obtidos por Simpson (1974). Esse autor, Simpson, constatou que a relação PFK/G6PD em gengiva de ratos foi de 2:1. Essa aparente discrepância pode ser explicada com base

na diferença marcante da atividade específica da fosfofrutoquinase entre a gengiva inserida e a mucosa gengival. Nicolau et al (1977) determinaram a atividade específica da fosfofrutoquinase em gengiva inserida ($68,0 \pm 10$) e em mucosa gengival ($240,0 \pm 60$) de ratos. Os dados obtidos neste trabalho para gengiva inserida de ratos ($66,9 \pm 2,1$) foram bastante semelhantes aos observados por Nicolau e colaboradores. A atividade específica da G6PD constatado pelo autor ($110,3 \pm 9,0$) foi concordante com os resultados de Simpson (1970).

A relação G6PD/PFK foi determinada, também, no periodonto de ratos submetidos a vitamina A.

A análise da tabela (9) revela um aumento progressivo nessa relação indicando uma ativação maior dessa via predominante na gengiva inserida, na presença de excesso de vitamina A.

Tendo em vista que a aldolase é uma enzima representativa da via glicolítica e que a atividade dessa enzima se mostrou correlacionada de uma maneira diretamente proporcional com a inibição e com a ativação dessa via metabólica (Bergquist e Nuki, 1973c), determinou-se a relação G6PD/ALD a fim de obter outro parametro para comparar a atividade da via pentose fosfato e da via glicolítica (tabela 11). A atividade específica da aldolase observada pelo autor nos animais controle ($24,4 \pm 3,1$) foi semelhante aos dos obtidos por Bergquist e Nuki ($26,75 \pm 3,36$).

Observa-se que o coeficiente da correlação entre as concentrações utilizadas da vitamina A e a atividade enzimática da aldolase (μ /g de tecido fresco) é extremamen

te alta ($r = 0,9926$), não ocorrendo o mesmo com a atividade específica da enzima ($r = 0,8891$) o que sugere uma possível participação da vitamina na síntese dessa enzima. O possível envolvimento da vitamina A na síntese proteica foi relatado por Deluca et al em 1969. Segundo esses autores a síntese proteica nos poliribossomos ligados a membrana, na mucosa intestinal, se mostra inibida nos animais com deficiência de vitamina A, acredita-se que essa vitamina é envolvida direta ou indiretamente na síntese proteica ao nível de tradução.

A síntese proteica no fígado, ainda segundo Deluca et al, não foi afetada pela deficiência de vitamina A. Essa observação não foi confirmada por Ram e Misra - (1975a e 1975b) os quais relataram que o excesso de vitamina A aumenta a proteína no fígado. A diversificação dos efeitos da vitamina A observada na literatura deve ser analisada em vista das dosagens utilizadas. Os efeitos da vitamina A são bastante variáveis conforme a dose utilizada, a idade do animal e o tecido estudado.

A importância da dose utilizada de vitamina A, ao nosso ver, deve estar relacionada com a ação dessa vitamina sobre as membranas e, principalmente, a membrana lisossômica. Em doses baixas é fácil observar efeitos sistêmicos da vitamina A tendo em vista que sua ação sobre os lisossomos é neutralizada pelo efeito dos corticóides que exercem funções protetoras sobre essas organelas impedindo a sua desintegração, quando as doses são elevadas, prevalece a ação desintegrante da vitamina A sobre os lisossomos permitindo, com isso, a liberação de várias enzimas hidrolíticas e a subsequente destruição da matriz intracelular.

Com a finalidade de investigar o efeito da hipervitaminose A sobre o metabolismo dos carboidratos no periodonto, determinou-se a atividade enzimática da hexoquinase, fosfofrutoquinase, aldolase, desidrogenase lática, glicose-6-fosfato desidrogenase, 6-fosfato gluconato desidrogenase na gengiva de ratos submetidos a várias dosagens de vitamina A (15.000, 30.000, 45.000, 60.000 e 75.000 I_u).

Os dados obtidos demonstraram uma aceleração da utilização da glicose, tanto pela via glicolítica - como pela via pentose fosfato, no tecido periodontal dos ratos tratados. A relação G6PD/PPK revelou que a via pentose fosfato, a via predominante na gengiva inserida, foi mais afetada na condição de hipervitaminose A. A atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase apresentou uma relação diretamente proporcional as dosagens utilizadas de vitamina A. Determinou-se também a relação G6PD/ALD a fim de obter outro parametro para avaliar o potencial relativo das vias estudadas.

O ajustamento dessas conclusões ao conjunto de dados extraídos da literatura específica ofereceu - subsídios para visualizar o mecanismo de ação da vitamina A sobre a atividade metabólica do tecido periodontal.

TABELA A-1 - Atividade enzimática da Hexoquinase , expressa em $\mu\text{p/mg}$ de proteína, em tecido gengival de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Número de Amostras
Controle	38,2966	6,5589	17,13	8
15.000	68,7331	15,9268	23,17	10
30.000	73,2444	17,6577	24,11	10
45.000	69,8084	15,4697	22,16	10
60.000	69,2081	9,6447	13,94	10
75.000	96,4438	14,9175	15,47	10

Equação da Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 60,0720$$

$$B = 0,0003$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,6857$$

TABELA A-2 - Atividade enzimática da fosfofrutoquinase, expressa em μ /mg de proteína, em tecido gengival de ratos submetidos a várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Número de Amostras
Controle	66,8673	2,0819	3,11	8
15.000	83,9051	4,4098	5,26	8
30.000	87,2878	6,3274	7,25	8
45.000	84,4632	9,2548	10,96	10
60.000	89,6257	5,5168	6,16	9
75.000	101,7924	7,9234	7,78	10

Equação da Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 77,9811$$

$$B = 0,0003$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,8265$$

TABELA A-3 - Atividade enzimática da Aldolase, expressa em μ /mg de proteína, em tecido gengival de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Número de Amostras
Controle	24,4068	3,0987	12,70	12
15.000	39,8833	5,6601	14,19	12
30.000	44,2462	3,4784	7,86	10
45.000	46,9761	2,0104	11,28	10
60.000	47,9479	3,7619	7,85	10
75.000	65,2396	9,3981	14,41	8

Equação da Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 32,5343$$

$$B = 0,0004$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,8891$$

TABELA A-4 - Atividade enzimática da desidrogenase lática, expressa em $\mu\mu$ /mg de proteína, em tecido gengival de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Número de Amostras
Controle	874,6892	73,4371	8,40	10
15.000	1184,5720	325,9648	27,51	8
30.000	935,7128	240,2509	25,68	8
45.000	1006,5700	165,1651	16,41	12
60.000	1087,8380	218,6518	20,10	10
75.000	1539,2440	220,7720	14,34	10

Equação da Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 892,3464$$

$$B = 0,0057$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,5768$$

TABELA A-5 - Atividade enzimática da Glicose-6-fosfato desidrogenase, expressa em μ /mg de proteína, em tecido gengival de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Número de Amostras
Controle	110,3312	8,9774	8,14	11
15.000	133,7123	44,3097	33,14	8
30.000	173,0521	32,0316	18,51	8
45.000	171,1168	45,0543	26,33	8
60.000	181,8688	38,7136	21,29	8
75.000	225,9630	39,2920	17,39	8

Equação de Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 119,1472$$

$$B = 0,0013$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,9274$$

TABELA A-6 - Atividade enzimática da 6-fosfogliconato desidrogenase, expressa em $\mu\text{p/mg}$ de proteína, em tecido gengival de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Número de Amostras
Controle	40,7544	9,1945	22,56	11
15.000	63,3624	9,5847	15,13	8
30.000	68,5411	11,0204	16,08	9
45.000	63,7845	11,6657	18,29	8
60.000	66,7270	6,7918	10,18	10
75.000	72,1070	10,7406	14,90	8

Equação da Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 62,2019$$

$$B = 0,0001$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,6870$$

TABELA A-7 - Atividade enzimática da Hexoquinase, expressa em μ /g de tecido fresco, em gengiva de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Número de Amostras
Controle	1,3111	0,2789	21,27	8
15.000	1,2238	0,1952	15,95	10
30.000	1,3968	0,2904	20,79	10
45.000	1,3309	0,2035	15,29	10
60.000	1,2933	0,1114	8,61	10
75.000	1,4836	0,2766	18,64	10

Equação de Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 1,2209$$

$$B = 2,774 \times 10^{-6}$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,6625$$

TABELA A-8 - Atividade enzimática da fosfofrutoquinase, expressa em μ /g de tecido fresco, em gengiva de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Numero de Amostras
Controle	1,2587	0,0951	7,56	8
15.000	1,5978	0,2293	14,35	8
30.000	1,6844	0,2036	12,09	8
45.000	1,5844	0,2495	15,75	10
60.000	1,5777	0,4192	26,57	9
75.000	1,6423	0,4710	28,68	10

Equação de Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 1,6226$$

$$B = 1,18 \times 10^{-7}$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,0619$$

TABELA A-9 - Atividade enzimática da Aldolase, expressa em μ /g de tecido fresco, em gengiva de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Número de Amostras
Controle	0,4872	0,0711	14,59	12
15.000	0,6615	0,1358	20,53	12
30.000	0,7982	0,2065	25,87	10
45.000	0,8694	0,1466	16,86	10
60.000	0,9486	0,2005	21,14	10
75.000	1,0360	0,2889	27,89	8

Equação de Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 0,5929$$

$$B = 5,9690 \times 10^{-6}$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,9926$$

TABELA A-10 - Atividade enzimática da desidrogenase lática, expressa em μ /g de tecido fresco, em gengiva de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Número de Amostras
Controle	18,1341	2,2634	12,49	10
15.000	18,7475	6,0952	32,51	8
30.000	17,8316	5,1822	29,06	8
45.000	19,0601	5,5849	28,21	12
60.000	19,7956	1,9979	10,09	10
75.000	24,8178	4,1633	28,10	10

Equação de Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 15,8191$$

$$B = 9,4031 \times 10^{-5}$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,8090$$

TABELA A-11 - Atividade enzimática da glicose-6-fosfato desidrogenase, expressa em μ /g de tecido fresco, em gengiva de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Número de Amostras
Controle	2,3051	0,2078	9,01	11
15.000	2,2582	0,4639	20,54	8
30.000	3,2394	0,3668	11,32	8
45.000	3,1280	0,4038	12,91	8
60.000	3,2944	0,5535	16,80	8
75.000	3,7445	0,6591	17,60	8

Equação de Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 2,2246$$

$$B = 2,0184 \times 10^{-5}$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,8826$$

TABELA A-12 - Atividade enzimática da 6-fosfogluconato desidrogenase, expressa em μ /g de tecido fresco, em gengiva de ratos submetidos à várias doses de vitamina A.

μ de Vitamina A Administrada	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação %	Número de Amostras
Controle	0,8445	0,1867	22,11	11
15.000	1,1776	0,1906	16,19	8
30.000	1,3528	0,1726	12,76	9
45.000	1,1943	0,2164	18,12	8
60.000	1,2346	0,1661	13,45	10
75.000	1,1243	0,1238	11,01	8

Equação de Regressão Linear

$$y = A + Bx$$

$$A = 1,2842$$

$$B = 1,4987 \times 10^{-6}$$

Coefficiente de Correlação

$$r = 0,4145$$

TABELA A-13 - Concentração de Vitamina A no fígado de ratos submetidos à várias doses da vitamina.

μ de Vitamina A Administrada	Vitamina A μg/ de tecido fresco		Número de Amostras
	Média	Desvio Padrão	
Controle	916,12	222,10	10
15.000	4.480,05	1.342,10	10
30.000	7.753,93	1.790,00	10
45.000	13.569,38	2.132,22	10
60.000	19.600,21	2.936,86	10
75.000	21.711,00	3.411,55	10

TABELA A-14 - Atividade enzimática da Hexoquinase na gengiva de ratos controle.

HEXOQUINASE				
Controle				
Proteína		μ/ml	mμ/mg	μ/gt
mg/ml	mg/g			
0,9787	40,539	0,032	32,696	1,3255
1,1923	47,246	0,032	26,839	1,2680
1,0143	39,837	0,038	37,464	1,4925
1,1745	48,432	0,045	38,314	1,8556
0,6977	27,580	0,029	41,570	1,1460
0,8129	33,870	0,032	39,370	1,3330
0,5622	22,190	0,023	40,910	0,9080
0,5893	23,570	0,029	49,210	1,1600
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,8777	35,4080	n = 8	38,2966	1,3111
S	S		S	S
0,2494	10,2414		6,5589	0,2789

TABELA A-15 - Atividade enzimática da Hexoquinase na gengiva de ratos tratados com 15.000 μ de Vitamina A.

HEXOQUINASE				
15.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,5694	22,8300	0,0320	56,1995	1,2830
0,4271	17,0500	0,0320	74,9239	1,2775
0,5161	20,5100	0,0320	62,0034	1,2775
0,4627	18,8600	0,0350	75,6430	1,4266
0,5148	20,8100	0,0260	50,5100	1,0610
0,5148	20,0400	0,0230	44,6800	0,8950
0,4200	17,2774	0,0341	81,1900	1,4028
0,3928	15,1106	0,0386	98,2690	1,4849
0,3794	17,9174	0,0257	67,7390	1,0105
0,3794	14,8298	0,0289	76,1730	1,1296
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4577	18,2235		68,7331	1,2238
		n = 10		
S	S		S	S
0,0617	2,8137		15,9268	0,1952

TABELA A-16 - Atividade enzimática da Hexoquinase na gengiva de ratos tratados com 30.000 μ de vitamina A.

HEXOQUINASE				
30.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,4805	19,2190	0,0350	72,8410	1,3999
0,4271	17,4710	0,0350	81,9480	1,4317
0,5516	21,6110	0,0350	63,4520	1,3713
0,5694	23,1900	0,0350	61,4680	1,4254
0,4742	19,4200	0,0260	54,6300	1,0650
0,5284	21,3600	0,0260	49,2100	1,0510
0,4606	18,8896	0,0450	97,6990	1,8455
0,4606	18,7658	0,0450	97,6990	1,8334
0,4064	16,5138	0,0257	63,2380	1,0443
0,4064	16,6568	0,0366	90,0590	1,5001
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4765	19,3097	n = 10	73,2444	1,3968
S	S		S	S
0,0575	2,1930		17,6577	0,2904

TABELA A-17 - Atividade enzimática da Hexoquinase na gengiva de ratos tratados com 45.000 μ de Vitamina A.

HEXOQUINASE				
45.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,3559	14,2360	0,0380	106,7720	1,5199
0,3915	15,4000	0,0480	122,6050	1,8881
0,5554	22,5400	0,0300	54,0200	1,2180
0,5690	22,2900	0,0420	73,8100	1,6450
0,5554	22,2200	0,0290	52,2100	1,1600
0,5148	21,0900	0,0290	56,3300	1,1880
0,4606	18,8006	0,0360	78,1590	1,4694
0,3928	16,1256	0,0380	98,2690	1,5846
0,4064	16,4134	0,0309	76,0330	1,2480
0,4064	16,2912	0,0283	69,6360	1,1345
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4608	18,5407	n = 10	69,8084	1,3309
S	S		S	S
0,0809	3,2312		15,4697	0,2035

TABELA A-18 - Atividade enzimática da Hexoquinase na gengiva de ratos tratados com 60.000 μ de Vitamina A.

HEXOQUINASE				
60.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,3915	16,0310	0,0290	74,074	1,1875
0,5339	21,4490	0,0350	65,555	1,4061
0,4805	19,0110	0,0350	72,841	1,3848
0,4805	18,6590	0,0320	66,597	1,2426
0,5554	22,8300	0,0300	54,020	1,2330
0,5758	23,1200	0,0360	62,520	1,4450
0,5487	21,9500	0,0320	58,320	1,2800
0,0447	17,1950	0,0360	80,537	1,3848
0,3794	14,9814	0,0276	72,746	1,0898
0,3794	15,0780	0,0322	84,871	1,2797
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4772	19,0303	n = 10	69,2081	1,2933
S	S		S	S
0,0757	3,1632		9,6447	0,1114

TABELA A-19 - Atividade enzimática da Hexoquinase na gengiva de ratos tratados com 75.000 μ de Vitamina A.

HEXOQUINASE				
75.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,4093	16,3710	0,0420	102,614	1,6799
0,3559	14,5270	0,0420	118,011	1,7143
0,3559	14,2360	0,0420	118,011	1,6800
0,3914	15,9756	0,0390	99,700	1,5923
0,3987	13,6924	0,0290	83,200	1,1392
0,3604	14,0156	0,0360	99,900	1,4002
0,4878	19,5084	0,0469	96,146	1,8757
0,3578	14,1322	0,0250	69,871	0,9874
0,4064	16,0816	0,0354	87,106	1,4008
0,3794	15,1996	0,0341	89,879	1,3661
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,3903	15,3739	n = 10	96,4438	1,4836
S	S		S	S
0,0403	1,7387		14,9175	0,2766

TABELA A-20 - Atividade enzimática da Fosfofrutoquinase na gengiva de ratos controle.

FOSFOFRUTOQUINASE

Controle				
Proteína		μ/ml	mμ/mg	μ/gt
mg/ml	mg/g			
0,4894	20,2695	0,0320	65,386	1,3253
0,4769	18,8984	0,0320	67,100	1,2681
0,5072	19,9185	0,0320	63,091	1,2567
0,4698	19,3728	0,0320	68,114	1,3196
0,3794	15,6578	0,0266	70,111	1,0978
0,4200	16,8613	0,0286	68,095	1,1482
0,5116	20,9000	0,0340	66,458	1,3890
0,4806	19,0000	0,0320	66,583	1,2651
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4669	18,8598	n = 8	66,8673	1,2587
S	S		S	S
0,0452	1,7648		2,0819	0,0751

TABELA A-21 - Atividade enzimática da Fosfofrutoquinase na gengiva de ratos tratados com 15.000 μ de Vitamina A.

FOSFOFRUTOQUINASE

15.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,5694	22,8300	0,0480	84,299	1,9245
0,4271	17,0500	0,0380	88,972	1,5170
0,5161	20,5100	0,0450	87,192	1,7883
0,4627	18,8600	0,0410	88,610	1,6712
0,4200	17,2774	0,0320	76,190	1,3164
0,3928	15,1106	0,0330	84,012	1,2695
0,4728	19,2200	0,0380	80,372	1,5447
0,5270	21,4600	0,0430	81,594	1,7510
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4775	19,0398		83,9051	1,5978
		n =		
S	S		S	S
0,0604	2,5341		4,4098	0,2293

TABELA A-22 - Atividade enzimática da Fosfofrutoquinase na gengiva de ratos tratados com 30.000 μ de Vitamina A.

FOSFOFRUTOQUINASE				
30.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,4805	19,2190	0,0450	93,652	1,7999
0,4271	17,4710	0,0380	88,972	1,5544
0,5516	21,6110	0,0440	79,768	1,7239
0,5694	23,1900	0,0520	91,324	2,1178
0,4606	18,8896	0,0370	80,330	1,5174
0,4606	18,7658	0,0367	79,678	1,4952
0,4456	17,0400	0,0420	94,255	1,6061
0,4650	18,3800	0,0420	90,323	1,6601
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4825	19,3208	n = 8	87,2878	1,6844
S	S		S	S
0,0507	2,0781		6,3274	0,2036

TABELA A-23 - Atividade enzimática da Fosfofrutoquinase na gen
giva de ratos tratados com 45.000 μ de Vitamina
A.

FOSFOFRUTOQUINASE

45.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,3559	14,2360	0,0320	89,913	1,2800
0,7474	30,5060	0,0480	64,223	1,9592
0,3915	15,4000	0,0360	91,954	1,4161
0,7118	28,3100	0,0510	71,649	2,0284
0,4572	18,4852	0,0390	85,302	1,5768
0,4030	15,8530	0,0340	84,367	1,3374
0,4650	18,2920	0,0420	90,323	1,6522
0,4108	16,7364	0,0355	86,417	1,4463
0,4606	18,8006	0,0408	88,580	1,6653
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4796	19,2745	n = 10	84,4632	1,5844
S	S		S	S
0,1366	5,5584		9,2548	0,2495

TABELA A-24 - Atividade enzimática da Fosfofrutoquinase na gengiva de ratos tratados com 60.000 μ de Vitamina A.

FOSFOFRUTOQUINASE

60.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,3915	16,0310	0,0367	93,742	1,5028
0,5339	21,4490	0,0414	77,543	1,6632
0,4805	19,0110	0,0450	93,652	1,7804
0,4805	18,659	0,0431	89,698	1,6737
0,2364	13,9059	0,0201	85,025	1,1824
0,2402	11,8131	0,0213	88,676	1,0475
0,2790	14,1360	0,0252	90,323	1,2768
0,4470	17,1950	0,0414	92,617	1,5926
0,6502	26,0112	0,0620	95,355	2,4803
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4155	17,5790	n = 9	89,6257	1,5777
S	S		S	S
0,1417	4,3363		5,5168	0,4192

TABELA A-25 - Atividade enzimática da Fosfofrutoquinase na gengiva de ratos tratados com 75.000 μ de Vitamina A.

FOSFOFRUTOQUINASE				
75.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,4095	16,3710	0,0440	107,501	1,7599
0,3559	14,5270	0,0384	107,895	1,5674
0,3559	14,2360	0,0328	92,161	1,3120
0,6050	24,5770	0,0700	115,702	2,8436
0,3914	15,9756	0,0412	105,263	1,6816
0,2984	13,2036	0,0281	94,169	1,2434
0,3487	13,6924	0,0333	95,498	1,3076
0,3604	14,0156	0,0384	106,543	1,4933
0,4878	19,5084	0,0465	95,326	1,8596
$\bar{x}$	$\bar{x}$		$\bar{x}$	$\bar{x}$
0,3971	16,0239	n = 10	101,5927	1,6425
S	S		S	S
0,0882	3,5254		7,9234	0,4710

TABELA A-26 - Atividade enzimática da Aldolase na gengiva de ratos controle

ALDOLASE				
Controle				
Proteína		μ/ml	mμ/mg	μ/gt
mg/ml	mg/g			
0,5230	20,51	0,0129	24,665	0,5059
0,4700	18,55	0,0096	20,426	0,3784
0,4170	18,19	0,0129	30,935	0,5318
0,4170	16,75	0,0096	23,022	0,3856
0,5120	20,04	0,0116	22,656	0,4540
0,4060	16,61	0,0096	23,645	0,3927
0,4830	19,17	0,0141	29,193	0,5596
0,5020	20,53	0,0129	25,697	0,5276
0,5400	22,16	0,0129	23,889	0,5294
0,4740	18,62	0,0116	24,473	0,4557
0,5893	23,57	0,0141	23,930	0,5640
0,6988	27,58	0,0142	20,350	0,5613
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,5026	20,1067	n = 12	24,4068	0,4872
S	S		S	S
0,0819	3,1611		3,0987	0,0711

TABELA A-27 - Atividade enzimática da Aldolase na gengiva de ratos tratados com 15.000 μ de Vitamina A.

ALDOLASE				
15.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,5694	22,8300	0,0213	37,408	0,8540
0,4271	17,0500	0,0161	37,696	0,6427
0,5161	20,5100	0,0201	38,946	0,7988
0,4627	18,8600	0,0198	42,792	0,8071
0,2364	9,6100	0,0132	55,838	0,5366
0,2635	10,7300	0,0111	42,125	0,4520
0,5148	20,8100	0,0188	36,519	0,7600
0,5148	20,0400	0,0192	37,296	0,7474
0,4200	17,2774	0,0173	41,190	0,7117
0,3928	15,1106	0,0154	39,205	0,5924
0,3794	14,9174	0,0130	34,265	0,5111
0,3794	14,8298	0,0134	35,319	0,5238
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4231	16,8813		39,8833	0,6615
		n = 12		
S	S		S	S
0,1015	4,0450		5,6601	0,1358

TABELA A-28 - Atividade enzimática da Aldolase na gengiva de ra
tos tratados com 30.000 μ de Vitamina A.

ALDOLASE				
30.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,5516	21,6110	0,0229	41,516	0,9627
0,5694	23,1900	0,0229	40,218	0,9326
0,2248	8,5200	0,1090	48,488	0,4131
0,2325	9,1900	0,0111	47,742	0,4387
0,6232	24,6500	0,0257	41,240	1,0170
0,4772	19,4200	0,0210	44,285	0,8600
0,5284	21,3600	0,0214	40,500	0,8651
0,4606	18,8896	0,0198	42,987	0,8120
0,4606	18,7658	0,0212	46,027	0,8637
0,4064	16,5138	0,0201	49,459	0,8167
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4532	18,2110	n = 10	44,2462	0,7982
S	S		S	S
0,1339	5,4582		3,4784	0,2065

TABELA A-29 - Atividade enzimática da Aldolase na gengiva de ra
tos tratados com 45.000 μ de Vitamina A.

ALDOLASE				
45.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,3559	14,2360	0,0165	46,361	0,6600
0,3915	15,4000	0,0194	49,553	0,7631
0,5554	22,5400	0,0246	44,292	0,9984
0,5690	22,2900	0,0272	47,803	1,0655
0,5554	22,2200	0,0261	46,993	1,0442
0,5148	21,0900	0,0249	48,425	1,0213
0,4606	18,8006	0,0199	43,204	0,8122
0,3928	16,1256	0,0193	49,134	0,7923
0,4064	16,4134	0,0189	46,506	0,7633
0,4064	16,2912	0,0193	47,490	0,7737
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4608	18,5407	n = 10	46,9761	0,8694
S	S		S	S
0,0808	3,2312		2,0104	0,1466

TABELA A-30 - Atividade enzimática da Aldolase na gengiva de ra
tos tratados com 60.000 μ de Vitamina A.

ALDOLASE				
60.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,3915	16,0310	0,0206	52,620	0,8435
0,5339	21,4490	0,0288	53,943	1,1570
0,4805	19,0110	0,0218	45,369	0,8625
0,5554	22,8300	0,0272	48,474	1,1181
0,5753	23,1200	0,0260	45,155	1,0440
0,5487	21,9500	0,0260	47,385	1,0401
0,4470	17,1950	0,0200	44,743	0,7694
0,6502	26,0112	0,0312	47,985	1,2482
0,3794	14,9814	0,0160	42,172	0,6318
0,3794	15,0780	0,0194	51,133	0,7710
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4942	19,7657	n = 10	47,9479	0,9486
S	S		S	S
0,0955	3,8477		3,7619	0,2005

TABELA A-31 - Atividade enzimática da Aldolase na gengiva de ratos tratados com 75.000 μ de Vitamina A.

ALDOLASE

75.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,6050	24,5770	0,0407	67,273	1,6534
0,3914	15,9756	0,0290	74,093	1,1837
0,2984	13,2036	0,0230	77,078	1,0177
0,3487	13,6924	0,0190	54,488	0,7461
0,3604	14,0156	0,0245	67,980	0,9528
0,3578	14,1322	0,0209	58,413	0,8255
0,4064	16,0816	0,0209	51,427	0,8270
0,3794	15,1996	0,0270	71,165	1,0817
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,3934	15,8597	n = 8	65,2396	1,0360
S	S		S	S
0,0914	3,6767		9,3981	0,2889

TABELA A-32 - Atividade enzimática do Lático Desidrogenase na gengiva de ratos controle.

LATICO DESIDROGENASE

Controle				
Proteína		μ/ml	mμ/mg	μ/gt
mg/ml	mg/g			
0,523	20,51	0,4838	925,048	18,9727
0,455	18,60	0,4206	924,396	17,1934
0,417	17,19	0,4134	991,367	17,0416
0,512	20,04	0,4618	901,953	18,0751
0,504	20,88	0,4424	877,778	18,3280
0,502	20,53	0,3928	782,470	17,0641
0,540	22,16	0,4121	763,148	16,9114
0,474	18,62	0,3834	808,861	15,0610
0,606	24,06	0,5627	928,548	22,3409
0,644	25,32	0,5431	843,323	21,3530
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,5177	20,791	n =10	874,6892	18,1341
S	S		S	S
0,0673	2,5005		73,4371	2,2634

TABELA A-33 - Atividade enzimática do Lático Desidrogenase na gengiva de ratos tratados com 15.000 μ de Vitamina A.

LATICO DESIDROGENASE

15.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,5694	22,8300	0,5627	988,230	22,5614
0,4271	17,0500	0,7395	1.731,440	29,5211
0,5161	20,5100	0,5466	1.059,100	21,7221
0,4627	18,8600	0,4180	903,390	17,0380
0,2364	9,6100	0,2540	1.074,450	10,3250
0,2635	10,7300	0,4130	1.567,360	16,8180
0,3794	14,9174	0,3119	822,087	12,2634
0,3794	14,8298	0,5048	1.330,521	19,7313
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4043	16,1672		1.184,572	18,7475
		n = 8		
S	S		S	S
0,1152	4,5856		325,9648	6,0952
n	n			
8	8			

TABELA A-34 - Atividade enzimática do Lático Desidrogenase na gengiva de ratos tratados com 30.000 μ de Vitamina A.

LÁTICO DESIDROGENASE				
30.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,4805	19,2200	0,6270	1.304,890	25,0800
0,4271	17,4700	0,3826	895,810	15,6498
0,5516	21,6100	0,5466	990,940	21,4141
0,5694	23,1900	0,5627	988,230	22,9171
0,4606	18,8896	0,2251	488,710	9,2315
0,4606	18,7658	0,3537	767,911	14,4104
0,4064	16,5138	0,3794	933,562	15,4166
0,4064	16,6568	0,4534	1.115,649	18,5331
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4703	19,0395		935,7128	17,8316
S	S		S	S
0,0618	2,3447		240,2507	5,1822
n	n		n	n
8	8		8	8

TABELA A-35 - Atividade enzimática do Lático Desidrogenase na gengiva de ratos tratados com 45.000 μ de Vitamina A.

LATICO DESIDROGENASE

45.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,5554	22,5400	0,6109	1.099,928	24,7920
0,5690	22,2400	0,6833	1.200,879	26,7680
0,5554	22,2200	0,6109	1.099,928	24,4400
0,5148	21,0400	0,6833	1.327,312	27,9930
0,4606	18,8006	0,4460	968,302	18,2050
0,3928	16,1256	0,3215	818,483	13,1960
0,4064	16,4134	0,3344	822,835	13,5060
0,4064	16,2912	0,4180	1.028,543	16,7560
0,4606	18,8006	0,4803	1.042,770	19,6047
0,3928	16,1256	0,3215	818,482	13,1985
0,4064	16,4134	0,3344	822,834	13,5055
0,4064	16,2912	0,4180	1.028,543	16,7562
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4605	18,6168	n = 12	1.006,570	19,0601
S	S		S	S
0,0698	2,7134		165,1651	5,5849

TABELA A-36 - Atividade enzimática do Lático Desidrogenase na gengiva de ratos tratados com 60.000 μ de Vitamina A.

LATICO DESIDROGENASE

60.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,3915	16,0300	0,4502	1.149,940	18,4335
0,5339	21,4500	0,4904	918,520	19,7023
0,4805	19,0100	0,4662	970,240	18,4443
0,4865	18,6600	0,5788	1.204,580	22,4774
0,2790	14,1360	0,3180	1.139,800	16,1123
0,5554	22,8300	0,5120	921,858	21,0460
0,5758	23,1200	0,4980	864,884	19,9960
0,5487	21,9500	0,4770	869,328	19,0817
0,3794	14,9814	0,5788	1.525,566	22,8551
0,3794	15,0780	0,4984	1.313,653	19,8072
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4610	18,7245		1.087,838	19,7956
		n = 10		
S	S		S	S
0,0985	3,4915		218,6528	1,9979

TABELA A -37 - Atividade enzimática do Lático Desidrogenase na gengiva de ratos tratados com 75.000 μ de Vitamina A.

LATICO DESIDROGENASE

75.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,4093	16,3700	0,5778	1.411,678	23,1092
0,3559	14,5300	0,5913	1.661,422	24,1405
0,3559	14,2400	0,5431	1.525,990	21,7301
0,6050	24,5800	0,8039	1.328,760	32,6609
0,3914	15,9756	0,6290	1.607,052	25,6736
0,2984	13,2036	0,5860	1.963,807	25,9293
0,3487	13,6924	0,5700	1.634,643	22,3822
0,4878	19,5084	0,7215	1.479,090	28,8547
0,4064	16,0816	0,6648	1.635,827	26,3067
0,3794	15,1996	0,4341	1.144,170	17,3910
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4038	16,3381	n = 10	1.539,244	24,8178
S	S		S	S
0,0863	3,3989		220,772	4,1633

TABELA A-38 - Atividade enzimática da Glicose-6-fosfato desidrogenase na gengiva de taros controle.

GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

Controle				
Proteína		μ/ml	mμ/mg	μ/gt
mg/ml	mg/gt			
0,523	20,51	0,0514	98,279	2,0157
0,455	18,60	0,0514	112,967	2,1012
0,417	17,19	0,0514	123,261	2,1189
0,512	20,04	0,0643	125,586	2,5167
0,504	20,88	0,0579	114,881	2,3987
0,502	20,53	0,0514	102,390	2,1021
0,540	22,16	0,0579	107,222	2,3760
0,474	18,62	0,0547	115,401	2,1488
0,606	24,06	0,0643	106,106	2,5529
0,644	25,32	0,0643	99,845	2,5281
0,597	23,18	0,0643	107,705	2,4966
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,5249	21,0082		110,3312	2,3051
		n = 11		
S	S	(48)	S	S
0,0681	2,4791		8,9774	0,2078

TABELA A-39 - Atividade enzimática da Glicose-6-fosfato desidrogenase, na gengiva de ratos tratados com 15.000 μ de Vitamina A.

GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

15.000				
Proteína		μ /g	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/gt			
0,5694	22,8300	0,0373	65,5076	1,4955
0,4271	17,0500	0,0482	112,8541	1,9242
0,5161	20,5100	0,0574	105,9870	2,1738
0,4627	18,8600	0,0463	100,0648	1,8872
0,4200	17,2774	0,0617	146,9040	2,5381
0,3928	15,1106	0,0656	167,0060	2,5235
0,3794	14,9174	0,0682	179,7570	2,6815
0,3794	14,8298	0,0727	151,6180	2,8416
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4434	17,6730	n = 8	133,7123	2,2582
S	S		S	S
0,0688	2,8994		44,3097	0,4639

TABELA A-40 - Atividade enzimática da Glicose-6-fosfato desidrogenase, na gengiva de ratos tratados com 30.000 μ de Vitamina A.

GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

30.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/gt			
0,4805	19,2190	0,0836	173,9850	3,3438
0,4271	17,4710	0,0836	155,7387	3,4198
0,5516	21,6110	0,0707	128,1730	2,7699
0,5694	23,1900	0,0720	126,4490	2,9323
0,4606	18,8896	0,0849	184,3240	3,4818
0,4606	18,7658	0,0887	192,5740	3,6138
0,4064	16,5138	0,0675	166,0920	2,7428
0,4064	16,6568	0,0881	216,7810	3,6108
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4703	19,0396	n = 8	168,0146	3,2394
S	S		S	S
0,0618	2,3448		31,0585	0,3668

TABELA A-41 - Atividade enzimática da Glicose-6-fosfato desidro
genase, na gengiva de ratos tratados com 45.000 μ
de Vitamina A.

GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

45.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,3559	14,2360	0,0579	162,866	2,3160
0,7474	30,5060	0,0772	103,291	3,1510
0,3915	15,4000	0,0932	238,259	3,6661
0,7118	28,3100	0,0804	112,953	3,1977
0,4606	18,8006	0,0836	181,502	3,4123
0,3928	16,1256	0,0817	207,993	3,3540
0,4064	16,4134	0,0740	182,086	2,9886
0,4064	16,2912	0,0733	180,364	2,9383
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4841	19,5104	n = 8	171,1168	3,1280
S	S		S	S
6,2674	6,2674		45,0543	0,4038

TABELA A-42 - Atividade enzimática da Glicose-6-fosfato desidrogenase, na gengiva de ratos tratados com 60.000 μ de Vitamina A.

GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

60.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,3915	16,0310	0,0707	180,587	2,8550
0,5335	21,4490	0,0868	162,577	3,4871
0,4805	19,0110	0,1093	227,471	4,3244
0,4805	18,6590	0,0707	147,138	2,7455
0,4470	17,1950	0,0823	184,116	3,1658
0,6502	26,0112	0,0842	129,498	3,3684
0,3794	14,9814	0,0675	177,912	2,6653
0,3794	15,0780	0,0932	254,691	3,7039
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4678	18,5520	n = 8	181,8688	3,2944
S	S		S	S
0,0925	3,7277		38,7136	0,5535

TABELA A-43 - Atividade enzimática da Glicose-6-fosfato desidrogenase, na gengiva de ratos tratados com 75.000 μ de Vitamina A.

GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

75.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,4093	16,3710	0,09320	227,706	3,7278
0,3559	14,5270	0,09320	261,871	3,8042
0,3559	14,2360	0,08680	243,889	3,4720
0,6050	24,5770	0,01029	170,083	4,1801
0,4878	19,5084	0,10930	224,067	4,3711
0,3578	14,1322	0,05920	165,455	2,3382
0,4064	16,0816	0,11060	272,145	4,3765
0,3794	15,1996	0,09200	242,488	3,6857
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4189	16,8291	n = 8	225,9630	3,7445
S	S		S	S
0,0873	3,5843		39,2920	0,6591

TABELA A-44 - Atividade enzimática da 6-fosfogliconato desidrogenase, na gengiva de ratos controle.

6-FOSFOGLICONATO DESIDROGENASE

Controle				
Proteína		μ/ml	mμ/mg	μ/gt
mg/ml	mg/g			
0,5622	22,19	0,0219	38,950	0,8644
0,5893	23,57	0,0154	26,130	0,6160
0,5230	20,51	0,0258	49,274	1,0106
0,4700	18,55	0,0193	41,064	0,7617
0,4550	18,60	0,0258	56,703	1,0547
0,4170	17,19	0,0129	30,935	0,5318
0,417	16,75	0,0167	40,048	0,6708
0,512	20,04	0,0257	50,195	1,0059
0,606	24,06	0,0193	31,848	0,7663
0,644	25,32	0,0241	37,422	0,9475
0,597	23,18	0,0273	45,729	1,0600
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,5266	20,9055	n = 11	40,7544	0,8445
S	S		S	S
0,0793	2,9360		9,1945	0,1867

TABELA A-45 - Atividade enzimática da 6-fosfogliconato desidrogenase, na gengiva de ratos tratados com 15.000 μ de Vitamina A.

6-FOSFOGLICONATO DESIDROGENASE				
15.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,5694	22,8300	0,0289	50,755	1,1587
0,4271	17,0500	0,0354	82,885	1,4132
0,5161	20,5100	0,0322	62,391	1,2796
0,4627	18,8600	0,0322	69,592	1,3125
0,5148	20,8100	0,0293	56,915	1,1844
0,5148	20,0400	0,0329	63,908	1,2807
0,3794	14,9174	0,0225	59,304	0,8846
0,3794	14,8298	0,0232	61,149	0,9068
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4705	18,7309	n = 8	63,3624	1,1776
S	S		S	S
0,0700	2,8935		9,5847	0,1906

TABELA A-46 - Atividade enzimática da 6-fosfogliconato desidrogenase, na gengiva de ratos tratados com 30.000 μ de Vitamina A.

6-FOSFOGLICONATO DESIDROGENASE

30.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,4805	19,2190	0,0386	80,333	1,5439
0,4271	17,4710	0,0354	82,885	1,4481
0,5516	21,6110	0,0322	58,376	1,2616
0,5694	23,1900	0,0322	56,551	1,3114
0,6232	24,6500	0,0325	52,150	1,2855
0,4732	19,4200	0,0361	76,128	1,4784
0,5284	21,3600	0,0393	74,374	1,5887
0,4064	16,5138	0,0264	64,960	1,0727
0,4064	16,6568	0,0289	71,112	1,1845
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4964	20,0102	n = 9	68,5411	1,3528
S	S		S	S
0,0768	2,8921		11,0204	0,1726

TABELA A-47 - Atividade enzimática da 6-fosfogliconato desidrogenase, na gengiva de ratos tratados com 45.000 μ de Vitamina A.

6-FOSFOFLICONATO DESIDROGENASE

45.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,7474	30,5060	0,0354	47,364	1,4449
0,7118	28,3100	0,0486	68,278	1,9329
0,5554	22,5400	0,0393	70,760	1,5949
0,5690	22,2900	0,0270	47,450	1,0577
0,5554	22,2200	0,0362	65,178	1,4483
0,5148	21,0900	0,0387	75,175	1,5854
0,4064	16,4134	0,0238	58,562	0,9612
0,4064	16,2912	0,0315	77,509	1,2627
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,5583	22,4576	n = 8	63,7845	1,4110
S	S		S	S
0,1239	5,0078		11,6657	0,3136

TABELA A-48 - Atividade enzimática da 6-fosfogliconato desidrogenase, na gengiva de ratos tratados com 60.000 μ de Vitamina A.

6-FOSFOGLICONATO DESIDROGENASE

60.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,3915	16,0310	0,0238	60,792	0,9749
0,5339	21,4490	0,0322	60,311	1,2936
0,4805	19,0110	0,0322	67,014	1,2746
0,4805	18,6590	0,0322	67,014	1,2504
0,5554	22,8300	0,0328	59,060	1,3483
0,5758	23,1200	0,0360	62,522	1,4455
0,5487	21,9500	0,0360	65,610	1,4401
0,3794	14,9814	0,0289	76,172	1,1411
0,3794	15,0780	0,0302	79,599	1,2001
0,2790	14,1360	0,0193	69,176	0,9779
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,4604	18,7245		66,7270	1,2346
		n = 10		
S	S		S	S
0,0984	3,4913		6,7918	0,1661

TABELA A-49 - Atividade enzimática da 6-fosfogliconato desidrogenase, na gengiva de ratos tratados com 75.000 μ de Vitamina A.

6-FOSFOGLICONATO DESIDROGENASE

75.000				
Proteína		μ /ml	m μ /mg	μ /gt
mg/ml	mg/g			
0,4093	16,3710	0,0322	78,671	1,2879
0,3559	14,5270	0,0257	72,211	1,0490
0,3559	14,2360	0,0257	72,211	1,0278
0,6050	24,5770	0,0289	47,769	1,1740
0,4064	16,0816	0,0296	72,834	1,1712
0,3794	15,1996	0,0322	84,870	1,2900
0,2984	13,2036	0,0220	73,727	0,9735
0,3487	13,6924	0,0260	74,563	1,0209
$\bar{X}$	$\bar{X}$		$\bar{X}$	$\bar{X}$
0,3949	15,9860	n = 8	72,1070	1,1243
S	S		S	S
0,0920	3,6405		10,7406	0,1238

- AMES, S.R., RISLEY, H.A. and HARRIS, P.L.: Simplified Procedure for Extraction and Determination of Vitamin A in Liver. Anal.Chem., 26 : 1378-1381, 1954.
- BANG, J., CIMASONI, G. and HELD, A.J.: Beta-glucuronidase Correlated with Inflammation in the Exudate from Human Gingiva. Arch. Oral Biol., 15 : 445-451, 1970.
- BAUME, L.J., FRANQUIN, J.C. and KORNER, W.F.: Some Histological and Histochemical Observations in the Oral Epithelium of Vitamin A Deficient Rats and Rats Receiving High Doses of Vitamin A. Internat. J.Vit. Res., 40 : 471-482, 1970.
- BERGMAYER, H.U.: Methods of enzymatic analysis. 2^a ed. - Trad. por Dermat, H. Williamson da 3^a ed. alemã. New York, Verlag Chemie, 1 : 1974.
- BERGQUIST, J.J. and FISHER, A.K.: Endogenous Oxygen Consumption Rates of Bovine Alveolar Mucosa. J. Dent.Res., 49 : 1522-1526, 1970.
- BERGQUIST, J.J. and NUKI, K.: Hexokinase activity in non-inflamed attached gingiva of rhesus monkeys. J. Periodont. Res. 8: 215-221, 1973a.
- BERGQUIST, J.J. and NUKI, K.: Pentose Shunt Enzyme Activities in non-inflamed Attached Gingiva of Dogs. J. Periodont. Res. 8 : 11-15, 1973b.
- BERGQUIST, J.J. and NUKI, K.: Fructoaldolase activity in non-inflamed Attached Gingiva of Rhesus Monkeys. J. Periodont. Res. 8 : 222-228, 1973c.

- BERGQUIST, J.J., ORGAN, R. and NUKI, K.: Isocitric Dehydrogenase activity in non-inflamed Attached Gingiva - of Rhesus Monkeys. J. Periodontal Res., 9 : 193-198, 1974.
- BJORN, A.L., KOCH, G. and LINDHE, J.: Evaluation of Gingival Fluid Measurements. Odont. Revy., 16 : 300-307, 1965.
- BONDY, P.K. and ROSENBERG, L.E.: Diseases of Metabolism. W.B. Saunders Comp. Phila., 7th Ed., 1974.
- CAMPBELL, M.J.A.: The Oxygen Utilization and Glucose Oxidation Rate of Gingival Tissue from non-diabetic and diabetic Patients. Arch. Oral Biol., 15 : 305-310, - 1970.
- CATANZARO-GUIMARÃES, S.A.: Fisiopatologias das Periodontopatias Inflamatórias. II. Mecanismo da Inflamação.- Revista APCD, 29 : 22-25, 1975.
- CHARREAU, E.H., KOFOED, J.A. and HOUSSAY, A.B.: Enzymes of the Tricarboxylic Cycle in Periodontal Tissues of the Guinea Pig. Arch. Oral Biol., 10 : 875-881, 1965.
- CHARREAU, E.H., KOFOED, J.A. and HOUSSAY, A.B.: Enzymes of Glycolytic Cycle in Periodontal Tissue of the Guinea Pig. Arch. Oral Biol., 11 : 709-715, 1966.
- De LUCA, L., LITTLE, E.P. and WOLF, G.: Vitamin A and Protein Synthesis by Rat Intestinal Mucosa. J. Biol.-Chem., 224 : 701-708, 1969.

- DINGLE, J.T., LUCY, J.A. and FELL, H.B.: Studies on the -
Mode of Action of Excess of Vitamin A. 1. Effect of Ex-
cess of Vitamin A on the Metabolism and Composition of
Embrionic Chick-limb Cartilage Grown in Organ Culture.
Biochem. J., 79 : 497-500, 1961.

- DREIER, D.L.: Collagen and Periodontal Disease, Report -
from the Annual AAAS Meeting. JADA, 88 : 698-700 ,
1974.

- EGGLESTON, L.V. and KREBS, H.A.: Regulation of the pento-
se fosfate cycle. Biochem. J., 138 : 425-435, 1974.

- FEHER, J. and JAKAB, L.: The Role of Connective Tissue -
cells in the Metabolic Changes of Glycosaminoglycane -
and Glycoprotein, in Experimental Inflammation. Acta
Morphologica Acad. Sci. Hung, 20 : 27-37, 1972.

- FINE, A.S., EGNDIR, R., FONTECCHIO, K., FROUM, S., SCOPP,
I.W. and STAHL, S.S.: Effect of Inflammation Upon Human
Gingival Oxidative Metabolism. J. Periodontal Res., 9:
222-226, 1974.

- FISHER, A.K. and McKERCHER, T.C.: The Effect of Cyanide
on Oxygen Consumption in Bovine Dental Pulp. J. Dental
Res., 48 : 920-923, 1969.

- FRANQUIN, J.C., BAUME, L.J. and KORNER, W.F.: Influence -
of Vitamin A on the Distribution of Succinic Dehydroge-
nase in Oral Epithelium of the White Rat. J.Periodont.
41 : 639-644, 1970.

- GLICKMAN, I., TUKESKY, S. and HILL, R.: Determination of Oxygen Consumption in Normal and Inflamed Human Gingiva using the Warburg Manometric Technic. J.Dent.Res., 28 : 83-94, 1949.
- GLICKMAN, I.: Periodontologia clínica. Interamericana, Argentina, 1^a ed. en español, 1974.
- ISHIKAWA, I., CIMASONI, G. and AHMAD-ZADEH, C.: Possible Role of Lysosomal Enzymes in the Pathogenesis of Periodontitis: A Study on Cathepsin D in Human Gingival Fluid. Arch. Oral Biol., 17 : 111-117, 1972.
- KELNER, R.M., WOHL, B.R., DEASY, M.J., FORMICOLA, A.J. : Gingival Inflammation as Related to Frequency of Plaque Removal. J. Periodont., 45 : 303-307, 1974.
- KOFOED, J.A., BOZZINI, C.E. and TOCCI, A.A.: Half-Life Times of Glycosaminoglycan Fractions in Gingiva, Skin , and Cartilage of Rats. J. Dent. Res., 50 : 171, 1971.
- LAINSON, P.A. and FISHER, A.K.: Endogenous Oxygen Consumption Rates of Bovine Attached Gingiva. J. Periodontal. Res., 3 : 132-135, 1968.
- LANGE, D.E. and SCHROEDER, H.E.: Structural Localization of Lysosomal Enzymes in Gingival Sulcus Cells. J. Dent. Res., 51 : 272-278, 1972.
- LAZZARI, E.P.: Dental Biochemistry. Lea & Febiger, Phila., 2nd Ed., 1976.
- LAWRENCE, D.J. and BERN, H.A.: On the Specificity of the

Responses of Mouse Epidermis to Vitamin A. J. Invest. Dermatol. 31 : 313-325, 1958.

- LELOIR, L.F. and CARDINI, C.E.: Uridine Nucleotides in the Enzymes. Vol. II, P.D. Boyer, H. Lardy and K. Myrback, Eds. New York Academic Press, Inc., 39-61, 1960.
- LITTARRU, G.P., NAKAMURA, R., HO, L., FOLKERS, K. and KUZELL, W.C.: Deficiency of Coenzyme Q₁₀ in Gingival Tissue from Patients with Periodontal Disease. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 68 : 2332-2335, 1971.
- LÖE, H. and HOLM-PEDERSON, P.: Absence and Presence of Fluid from Normal and Inflamed Gingiva. Periodontics 3 : 171-177, 1965.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L. and RANDALL, R. J.: Protein Measurement with the Folin-Phenol Reagent. J. Biol. Chem., 193 : 265-275, 1951.
- LOWRY, O.H. and PASSONNEAU, J.J.: The relationships between Substrate and Enzymes of Glycolysis in Brain. J. Biol. Chem., 239 : 31-42, 1964.
- LUCY, J.A., DINGLE, J.T. and FELL, H.B.: Studies of the Mode of Action of Vitamin A - A Possible Role of Intracellular Proteases in the Degradation of Cartilage Matrix. Biochem. J., 79 : 500-508, 1961.
- MANSOUR, T.E.: Studies on Heart Phosphofructokinase: Purification, Inhibition and Activation. J. Biol. Chem. 238 : 2285-2292, 1963.

- MATSUMURA, T., SAJI, S., NAKAMURA, R. and FOLKERS, K.: Evidence for Enhanced Treatment of Periodontal Disease by Therapy with Coenzyme Q. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 43 : 532-548, 1973.
- MCKERCHER, T.C. and FISHER, A.K.: Effects of Heat on Oxygen Consumption in Bovine Dental Pulp. *J. Dent. Res.*, 47 : 798-800, 1968.
- MOORE, T.: *Vitamin A*. Elsevier, New York, 535, 1957.
- MUNEMOTO, K., IWAYADA, Y., YOSHIDA, M., SERA, M., AONO, M. and YOKOMIZO, I.: Isolation and Characterization of Acid Mucopolysaccharides of Bovine Periodontal Membrane. *Arch. Oral Biol.*, 15: 369-382, 1970.
- NAKAMURA, R., LITTARRU, G.P. and FOLKERS, K.: Deficiency of Coenzyme Q in Gingiva of Patients with Periodontal Disease. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 43 : 84-92, 1973.
- NICOLAU, J., TAMER, A.N. and BERGAMASCHI, O.: Activities of Hexokinase, Phosphofructokinase and Pyruvatekinase in the Gingival Tissue of the Rat, Hamster, Guinea Pig and Human. *J. Periodontal Res.*, 12 : 279-282, 1977.
- OLIVER, R.C., HOLM-PEDERSON, P. and LÖE, H.: The Correlation Between Clinical Scoring, Exudate Measurements, and Microscopic Evaluation of Inflammation in the Gingiva. *J. Periodont.*, 40 : 201-208, 1969.
- PAGE, R.C., SIMPSON, D.M., AMMONS, W.F.: Host Tissue Response in Chronic Inflammatory Periodontal Disease. The

Periodontal and Dental Status of a Group of Aged Great Apes. J. Periodont., 46 : 144-155, 1975.

- PAYNE, W.A., PAGE, R.C., OGILVIE, A.L., HALL, W.B.: Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. J. Periodontal Res., 10 : 51-64, 1975.
- PERSON, P., FELTON, J. and FINE, A.: Biochemical and Histochemical Studies of Aerobic Oxidative Metabolism of Oral Tissues. III. Specific Metabolic Activities of Enzymatically Separated Gingival Epithelium and Connective Tissue Components. J. Dent. Res., 44 : 91-95, 1965.
- PITT, G.A.J. and MORTON, R.A.: Fat Soluble Vitamins. Ann. Rev. Biochem., 31 : 491-514, 1962.
- PROCHOP, D., KAPLAN, A. and UNDERFRIENDS, S.: Oxygen-18 - Studies on the Conversion of Proline to Collagen Hydroxyproline. Arch. Biochem. Biophys., 101:499-503, 1963.
- RABINOWITZ, J.L., RUTBERG, M., COHEN, D.W. and MARSH, J. B.: Human Gingival Lipids. J. Periodont. Res., 8 : 381-383, 1973.
- RAM, G.C. and MISRA, U.K.: Effects of Vitamin A and Phenobarbital on Liver Endoplasmic Reticulum of Rats. Internat. J. Vit. Nutr. Res., 44 : 391-395, 1974.
- RAM, G.C. and MISRA, U.K.: Studies on Mode of Action of Vitamin A. Internat. J. Vit. Nutr. Res., 45 : 3-19, 1975a.

- RAM, G.C. and MISRA, U.K.: RNA Synthesis in Liver Nuclei of Young Rats Fed Varying Amounts of Vitamin A. Internat. J. Vit. Nutr. Res., 43 : 124-128, 1975b.
- RAPP, G.W. and ORZOLEK, M.L.: Protease Activities of Normal and Inflamed Human Gingiva. J. Periodont., 37 : 331-336, 1966.
- ROSE, H.: The Relationship of Hyperglycemia to Periodontal Disease. J. Periodont., 44 : 303-308, 1973.
- SCHWARTZ, J. and DIBBLEE, M.: The Effect of Endotoxins and Enzymes in Vitro on the Release of Gingival Histamine. J. Periodont., 46 : 662-668, 1975.
- SEBRELL Jr., W.H. and HARRIS, R.S.: The Vitamins. Academic Press Inc., vol. 1, 1954.
- SHAHRIK, H.A., EICHEL, B. and LISANTI, V.F.: Cytochemical Localization and Distribution of a Lactate Utilizing Enzyme System in Human Gingiva. Arch. Oral Biol., 9: 1 15, 1964.
- SHUNK, C.E. and BOXER, G.E.: Enzyme Pattern in Human Tissues. I. Methods for the Determination of Glycolytic Enzymes. Cancer Res., 24 : 709-721, 1964.
- SIMPSON, J.W.: Studies on the Pentose Phosphate Pathway of Glucose Metabolism in Rat Gingival Tissue. Arch. Oral Biol., 15 : 689-703, 1970.
- SIMPSON, J.W.: Pathways for Glucose Metabolism in the Rat Gingiva. I. Patterns of Glucose Metabolism. J. Dent. Res.,

53 : 938, 1974.

- STALLARD, R.E.: The Utilization of H^3 Proline in the Connective Tissue Elements of the Periodontium. J.Periont., 1 : 185-188, 1963.
- TELSER, A., ROBINSON, H.C. and DORFMAN, A.: The Biosynthesis of Chondroitin-Sulfate Protein Complex. Proc.Nath. Acad. Sci (Wash), 54 : 912-919, 1965.
- TOLO, K.J.: A Study of Permeability of Gingival Pocket Epithelium to Albumin in Guinea Pigs and Noverwegian-Pigs. Arch. Oral Biol., 16: 881-888, 1971.
- TSUNEMITSU, A. and MATSUMURA, T.: Effect of Coenzyme Q Administration on Hypercitricemia of Patients with Periodontal Disease. J. Dent. Res., 46 : 1382-1384, 1967.
- TYNELIUS-BRATTHALL, G. and ATTSTROM, R.: Acid Phosphatase, Hyaluronidase and Protease in Crevices of Healthy and Chronically Inflamed Gingiva in Dogs. J. Dent. Res. , 51: 279-283, 1972.
- UYEDA, K. and RACKER, E.: Regulation Mechanisms in Carbohydrate Metabolism. VII. Hexokinase and Phosphofructokinase. J. Biol. Chem., 240 : 4682-4688, 1965.
- WARD, P.A.: Inflammation, in La Via, M.F. and Hill, R.B.- Principles of Pathobiology. New York, Oxford University Press, 36-132, 1971.
- WARD, P.A. and HILL, J.H.: Role of Complement in the Generation of Leukotatic Mediators in Immunologic and Non-

- specific Tissue Injuries, In Forscher, B.K. and Houck, J.C. eds. Immunopathology of Inflammation. Excerpta Medica Amsterdam, 52-58, 1971.
- WEINSTEIN, E., MANDEL, I.D., SALKIND, A., OSHRAIN, H. E. and PAPPAS, G.: Studies of Gingival Fluid. J. Periodontics, 5 : 161-166, 1967.
 - WEINTOCK, M. and LEBLOND, C.P.: Formation of Collagen . Fed. Proc., 33 : 1206-1218, 1974.
 - WOLF, G. and VARANDINI, P.T. : Studies on the Function of Vitamin A in Mucopolysaccharide Biosynthesis. Biochim. Biophys. Acta, 43 : 501-512, 1960.
 - WOLF, G., VARANDINI, P.T. and JOHNSON, B.C.: Vitamin A and Mucopolysaccharides Synthesizing Enzymes. Biochim. Biophys. Acta, 46 : 59-67, 1961.