



1150053852



FOP

T/UNICAMP An24e

EDUARDO DIAS DE ANDRADE

ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DA BETAMETASONA E DAPIRONA,
ADMINISTRADAS ISOLADAMENTE E EM ASSOCIAÇÃO, SOBRE A
MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA, EM CAMUNDÓNGOS.

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de
Campinas, para a obtenção do
título de Professor Livre-
Docente na Área de Farmacologia,
Anestesiologia e Terapêutica.

PIRACICABA

- 1991 -

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

BIBLIOTECA

2.435

À MINHA FAMÍLIA - MARIA ISABEL, CASSIO E RAFAEL,
QUE SEMPRE PROCURARAM COMPREENDER E APOIAR MEUS
OBJETIVOS NA CARREIRA PROFISSIONAL.

... OFEREÇO ESTE TRABALHO.

AOS COLEGAS DA ÁREA DE FARMACOLOGIA, ANESTESIOLOGIA E TERAPÊUTICA
- NEDER, JONAS, AMADO, SAMIR, MARILU, RANALI, THALES, PEDRO E
CRISTINA - EQUIPE DA QUAL SINTO ORGULHO EM PARTICIPAR, QUE
POSSAM CONTINUAR CONTRIBUINDO PARA O DESENVOLVIMENTO DO
ENSINO E DA PESQUISA EM NOSSA INSTITUIÇÃO.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. CARLOS ALBERTO VOGT , Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, por estabelecer como objetivo prioritário em sua gestão, a QUALIDADE do ensino e da pesquisa;
- Ao Prof. Dr. RENATO ROBERTO BIRAL, DD. Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela demonstração de apóio às nossas atividades;
- Ao Prof. Dr. JOÃO LEONEL JOSE, Chefe do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pelo correto encaminhamento administrativo de nossas solicitações;
- À Farmacêutica e Mestre em Farmacologia, Sra. DÓRIS APARECIDA ANTONIO DE SOUZA MARTINS, pelo grande auxílio prestado durante a fase experimental do presente trabalho;
- À Profa. Dra. SÔNIA VIEIRA , pela orientação criteriosa e correção dos estudos estatísticos;
- À Bibliotecária Sra. SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLIANI, pela competente orientação nas correções das referências bibliográficas;

Aos Funcionários, Sr. JOSÉ CARLOS GREGÓRIO e Sr. MOYSÉS JOSÉ MARIA DA SILVA, pela colaboração nas atividades de laboratório e cuidados para com os animais;

Às Funcionárias Sras. VILMA BIZUTI DOS SANTOS e MARIA ELISA DOS SANTOS, pela presteza nos serviços de datilografia;

À Funcionária Sra. SUZETE REGINA TOBIAS NEDER, pela extrema eficiência nos serviços de digitação do original desta Tese;

Ao Funcionário Sr. MARCOS RAPETTI, pelo auxílio na idealização e digitação dos gráficos desta pesquisa;

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho.

CONTEÚDO

	página
I. INTRODUÇÃO	01
II. REVISÃO DA LITERATURA	07
1. Os neutrófilos e a resposta inflamatória	07
2. Betametasona	10
3. Dipirona	15
III. PROPOSIÇÃO	19
IV. MATERIAL E MÉTODOS	20
1. Seleção dos animais	20
2. Grupos de estudo e procedimentos experimentais	20
3. Leitura dos resultados	22
4. Análise estatística	22
V. RESULTADOS	23
VI. DISCUSSÃO	27
VII. CONCLUSÕES	33
RESUMO	34
SUMMARY	35
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
APÊNDICE	45

I. INTRODUÇÃO

A dor é um fenómeno presente na maioria das afecções que afligem o ser humano, quer como manifestação inicial, quer durante a evolução de um quadro clínico qualquer. Ela é citada em praticamente todas as culturas, retroagindo no tempo até os primeiros relatos escritos na história da humanidade. São clássicas as descrições da medicina chinesa, egípcia e grega, nas quais são mencionados variados métodos de tratamento, alguns de fundo místico, outros de base puramente empírica.

Especificamente na Odontologia, segundo HARGREAVES et alii (1987), os dois tipos mais comuns de dor aguda são caracterizados pela dor dentinária e pela dor inflamatória.

Após a exposição da dentina, seja por perda de esmalte ou por perda de cemento e gengiva, a sensibilidade dentinária pode se desenvolver, sendo identificada por uma dor aguda que ocorre logo após o estímulo provocado (BERMAN, 1985; DOWELL et alii, 1985).

A teoria hidrodinâmica da dor dentinária, que encontra grande suporte experimental, postula que o movimento de fluido através dos túbulos dentinários resulta em dor. Estímulos diversos, incluindo golpes de ar, frio e açúcares hipertônicos podem produzir movimento do fluido dos túbulos dentinários, resultando na estimulação de fibras nervosas nociceptivas, localizadas na face pulpar dos mesmos (BRANNSTROM, 1986; TROWBRIDGE, 1986).

A terapêutica atual proposta para bloquear ou atenuar a dor dentinária inclui a aplicação de agentes como o flúor, estrôncio ou nitrato de potássio (BERMAN, 1985), como também de resinas ou outros materiais adesivos diretamente sobre os túbulos dentinários (DAYTON et alii, 1974; BRANNSTROM et alii, 1979).

O segundo tipo comum de dor orofacial aguda é de origem inflamatória, cujos complexos mecanismos ainda não se encontram plenamente compreendidos.

A explicação clássica da dor inflamatória é que ela

resulta de ações excitatórias de mediadores endógenos, os quais são liberados por tecidos lesados ou inflamados (LYNN, 1984). Este conceito implica na presença de vários autacóides, que poderiam se constituir num "coquetel" de mediadores químicos, com uma capacidade qualitativamente igual de ativar os nociceptores.

Segundo FERREIRA (1990), os mediadores responsáveis pela dor inflamatória podem ser classificados em dois tipos:

1. Ativadores diretos dos nociceptores: representados pela histamina e bradicinina, sendo esta de muito maior potência.

2. Sensibilizadores dos nociceptores: aqueles que sensibilizam diretamente os nociceptores, através da potenciação da ação dos ativadores diretos (histamina e bradicinina), ou dos estímulos térmicos e mecânicos. Nesta classe de mediadores químicos, enquadram-se os produtos do metabolismo do ácido araquidônico, via cicloxigenase (PGE_2 , PGI_2 , PGD_2), a interleucina 1, o fator ativador de plaquetas (PAF), as aminas simpatomiméticas (noradrenalina, dopamina e serotonina) e, provavelmente, o leucotrieno B_4 , um outro metabólito do ácido araquidônico, via lipoxigenase.

Ainda de acordo com FERREIRA (1990), o termo técnico correto para descrever o estado de sensibilização do nociceptor é alodinia ("allodynia"). Entretanto, a denominação mais comum empregada por clínicos e pesquisadores é hiperalgesia. Como consequência, os mediadores químicos endógenos que promovem a sensibilização dos nociceptores, são também chamados por substâncias hiperalgésicas.

Além da dor, um outro evento importante da resposta inflamatória aguda, ou imediata, é o aparecimento no local da lesão de neutrófilos polimorfonucleares e de macrófagos. Qual seria o papel do neutrófilo neste processo e sua relação com a ativação direta ou sensibilização dos nociceptores da dor?

Elie Metchnikoff, biólogo russo que no século passado descobriu a fagocitose, assim como outros investigadores contemporâneos, indagavam se o neutrófilo seria um "bravo soldado", defendendo o organismo contra agressões de etiologia diversa, ou poderia ser o causador de considerável injúria, desde

que eram encontrados em grande número nas articulações reumatóides.

Nos dias atuais, parece existir o consenso de que a resposta inflamatória pode ser encarada geralmente como um processo de defesa do organismo. Entretanto, ressalta-se que alguns mecanismos da inflamação, considerados como "protetores", como a fagocitose e a conseqüente liberação de poderosas enzimas lisossomais pelos neutrófilos, somada à produção de radicais oxigenados tóxicos livres, de acordo com a intensidade, podem se transformar em fenômenos destrutivos, aumentando ainda mais a lesão tecidual (LENGFELDER, 1984).

PALMBLAD (1984), num criterioso trabalho de revisão sobre o papel dos neutrófilos na inflamação, descreve que estas células secretam compostos de variada atividade biológica, especialmente quando se acumulam nos sítios inflamatórios. Produtos de secreção são liberados nos tecidos através da exocitose de grânulos citoplasmáticos, como também através de eventos metabólicos que ocorrem na membrana plasmática dos neutrófilos. Segundo o autor, a liberação de constituintes lisossomais, como a lactoferrina, elastase e colagenase, está associada com o controle da reposição de neutrófilos e sua participação na resposta inflamatória, como por exemplo, na destruição de tecido conjuntivo. Paralelamente, a geração de radicais oxigenados citotóxicos (ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e hidroxila livre), é desencadeada por inúmeros mediadores inflamatórios. Estes dois sistemas citados, sejam em conjunto ou individualmente, podem causar danos a muitos tipos de estruturas, desde microrganismos invasores até células normais do hospedeiro.

Três anos antes, WEDMORE & WILLIAMS (1981) sugeriram a participação dos neutrófilos no controle da permeabilidade vascular às proteínas plasmáticas e, conseqüentemente, na formação do edema inflamatório.

Pode-se deduzir que, mesmo após 100 anos dos relatos pioneiros de Metchnikoff e apesar do fantástico avanço tecnológico atual, as funções dos neutrófilos no processo

inflamatório ainda não se encontram totalmente esclarecidas. O que se sabe, com certeza, é que o neutrófilo, cientificamente denominado leucócito granulócito polimorfonuclear neutrofílico, constitui-se na principal célula efetora da resposta inflamatória aguda, e que o controle adequado de algumas de suas atividades, pode propiciar benefícios ao hospedeiro.

Em 1949, a famosa Clínica Mayo nos Estados Unidos da América foi palco de um "milagre" médico para a época. Pacientes portadores de artrite reumatóide, imobilizados no leito devido principalmente à dor articular, passaram a caminhar quase que naturalmente após o tratamento sistêmico com os Compostos E e F, preconizados por HENCH et alii (1949). Esses compostos nada mais eram do que a hidrocortisona e o ACTH, respectivamente, cujo emprego clínico revolucionou o tratamento de inúmeras doenças inflamatórias e rendeu o Prêmio Nobel de Medicina a dois membros da equipe, Hench e Kendall, em 1951.

À partir daí, e já por quase 4 décadas, médicos e cirurgiões-dentistas do mundo inteiro têm explorado a extraordinária propriedade dos corticosteróides em atenuar ou suprimir a resposta inflamatória, seja ela induzida por agentes físicos, químicos, biológicos ou imunológicos.

Dentre os vários mecanismos de ação antiinflamatória propostos para os corticosteróides, que serão melhor discutidos no decorrer deste trabalho, destaca-se aquele proposto por CLAMAN (1983), que diz textualmente: "A redução do acúmulo de neutrófilos, combinada com a redução do acúmulo de monócitos macrófagos no sítio inflamatório, pode apresentar o maior mecanismo antiinflamatório dos corticosteróides". Este conceito encontra suporte, pelo menos em parte, em vários trabalhos experimentais que demonstraram a propriedade dos corticosteróides em diminuir a migração leucocitária para os focos inflamados (FRUHMANN, 1964; VINEGAR et alii, 1972; PERPER et alii, 1974; THIEME et alii, 1982).

Uma outra família de medicamentos, empregada no controle de algumas das manifestações locais e sistêmicas da inflamação, é constituída pelos derivados pirazolônicos. Dentre

estes, pode-se destacar a dipirona (metilmelubrina, metampirona), que interessa sobremaneira a esta pesquisa.

A dipirona, quimicamente denominada por sulfonato sódico de aminopirina, foi introduzida na prática médica há mais de 40 anos. À partir do aumento de seu emprego clínico, em torno do ano de 1959, particularmente em algumas regiões da Europa, e em crianças, começaram a surgir dados epidemiológicos associando a terapêutica com dipirona e a incidência de agranulocitose, uma patologia grave caracterizada basicamente por uma súbita diminuição do número de leucócitos granulócitos circulantes no sangue, comprometendo de forma drástica as defesas do organismo contra as infecções.

Apesar desta importante associação entre dipirona e agranulocitose, e a despeito de sua retirada do mercado farmacêutico nos Estados Unidos da América, muitos países europeus, além de Israel, Japão e Brasil, mantêm até hoje um alto consumo "per capita" do medicamento, sem que tenha havido um aumento proporcional do número de casos desta discrasia sanguínea (GLADTKE, 1983).

De acordo com NIKOLOVA et alii (1980) e NIKOLOV et alii (1980), o perfil de efeitos farmacológicos da dipirona é diferente daquele atribuído aos antiinflamatórios não esteróides. Devido à dipirona exercer um efeito analgésico e antipirético, com pouquíssima ou nenhuma atividade antiedematosa (em experimentos com animais e na terapêutica clínica), um mecanismo de ação central geralmente é postulado. Este conceito é aparentemente suportado pelo grande efeito inibitório apresentado pela dipirona sobre a enzima cicloxigenase dos tecidos do SNC, o que não acontece nos demais tecidos orgânicos (DEMBINSKA-KIEO et alii, 1976).

Entretanto, segundo MONCADA et alii (1973), esta ação diferencial pode explicar uma ação periférica, se for aceito que a sensação de dor inflamatória é devida à liberação de prostaglandinas do próprio nociceptor, antes que dos tecidos vizinhos ou dos fagócitos migrantes.

NIKOLOV et alii (1980), postularam inclusive um possível antagonismo receptor entre a dipirona e a prostaglandina E_2 (PGE₂).

Uma série de experimentos em animais de laboratório realizados por LORENZETTI & FERREIRA (1985), contribuíram de forma decisiva para o entendimento dos mecanismos de ação analgésica da dipirona, baseados num antagonismo direto da hiperalgesia inflamatória, os quais serão melhor abordados em outro capítulo deste trabalho.

A ação da dipirona sobre a migração de leucócitos, segundo MATZNER et alii (1984), foi muito pouco estudada. Estes autores, num trabalho "in vitro" com os metabólitos da dipirona, demonstraram que somente 2 destes metabólitos inibiam a migração de neutrófilos, quando empregados em concentrações compatíveis com aquelas obtidas em uso terapêutico clínico.

WEITHMANN & ALPERMANN (1985), realizaram uma exaustiva pesquisa sobre os efeitos farmacológicos da dipirona, e de seus metabólitos, em modelos de estudo relacionados com a cascata do ácido araquidônico. Uma das conclusões deste trabalho foi que as drogas estudadas não tinham efeito significativo na via lipoxigenase e, conseqüentemente, na geração de leucotrienos B₄, um dos mais potentes agentes quimiotáticos para leucócitos já descritos no literatura.

Diante do estado atual da questão, o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar os efeitos da dipirona sobre a migração leucocitária, através de um estudo "in vivo", em camundongos, quando associada ou não à betametasona, um corticosteróide sintético com comprovada ação anti-quimiotática, na expectativa de acrescentar alguma contribuição com relação ao emprego clínico destes medicamentos na prevenção ou tratamento da dor inflamatória aguda.

II. REVISÃO DA LITERATURA

1. OS NEUTRÓFILOS E A RESPOSTA INFLAMATÓRIA

A leucodiapedese constitui-se num sinal de extrema importância na resposta inflamatória. Este fenômeno é caracterizado pela emigração de leucócitos de pequenos vasos sanguíneos e seu acúmulo em tecidos injuriados ou inflamados (DI ROSA, 1979).

Segundo este mesmo autor, a população de células brancas do sangue que emigra para o tecido lesado, é composta principalmente de polimorfonucleares granulócitos neutrofilicos (neutrófilos, PMNs), e mononucleares (monócitos e linfócitos). Outras células (plasmócitos, granulócitos basófilos e eosinófilos), são pobremente encontradas no infiltrado celular, embora estas últimas sejam proeminentes em reações alérgicas ou infestações por parasitas.

Admite-se que a predominância dos neutrófilos em relação aos monócitos macrófagos na resposta inflamatória aguda, está relacionada com a sua maior velocidade de migração (FERREIRA, 1980).

De acordo com PALMBLAD (1984), após a emigração de neutrófilos, ocorre a agregação (acúmulo) no local injuriado, podendo formar um "plug" ou tampão mecânico de pequenos vasos. Mais importante, entretanto, são as consequências da perturbação simultânea da membrana celular através de mediadores químicos, levando à uma ativação dos sistemas intracelulares, os quais possuem potenciais citotóxicos.

Os dois sistemas mais conhecidos são a liberação de constituintes lisossomais, e a geração de radicais oxigenados tóxicos, sendo atribuída a ambos a propriedade de produzir danos ou até mesmo lise das células endoteliais (SACKS et alii, 1978; KLEBANOFF, 1980 e WEISS et alii, 1981).

De fato, em 1981, HARLAN et alii, num ensaio "in

vitro", concluíram que proteases neutras derivadas de neutrófilos mediam a separação de células endoteliais, através da digestão de proteínas da superfície das mesmas, incluindo a fibronectina.

BABIOR (1978), demonstrou que a ação bactericida dos neutrófilos é dependente do metabolismo do oxigênio, através da produção de radicais hidroxila, superóxido e peróxido de hidrogênio.

KLEBANOFF (1980), descreve que o sistema antimicrobiano oxigênio-dependente dos fagócitos está inativo quando os mesmos estão em repouso, sendo ativado quando há necessidade de destruição de microrganismos invasores ou outras células estranhas. Ocasionalmente, os produtos tóxicos são dirigidos contra as células normais do hospedeiro, contribuindo desta forma para a patogenia da doença.

WEISS et alii (1981), propõem que os neutrófilos humanos podem destruir células endoteliais humanas em cultura, através da geração de quantidades citotóxicas de peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Segundo ABRAMSON et alii (1984), a lesão de membranas celulares e a degradação de ácido hialurônico pode resultar da liberação de ânion superóxido e de outros produtos derivados do oxigênio celular, durante a atividade dos fagócitos polimorfonucleares.

Como é sabido, existem vários agentes quimiotáticos para leucócitos, tanto exógenos como endógenos, estes de origem humoral, celular ou tissular. Dentre a gama de substâncias que aumentam a cinética destas células inflamatórias, grande destaque vem sendo dado ao leucotrieno B_4 , um dos principais produtos do metabolismo do ácido araquidônico, via lipoxigenase.

MALMSTEN et alii (1980), estudaram os efeitos de várias substâncias derivadas do ácido araquidônico, sobre a quimiotaxia e resposta dos polimorfonucleares humanos ao peptídeo fLMP, na presença de inibidores da cicloxigenase e da lipoxigenase. Demonstraram que o leucotrieno B_4 (LTB_4) constitui-se num fator estimulante de grande potência na migração destas células.

GOETZL & PICKETT (1980), demonstraram que o LTB_4 induz

a quimioquinesia e a secreção de enzimas lisossomais dos leucócitos.

Segundo WEDMORE & WILLIAMS (1981), o LTB_4 também aumenta a permeabilidade capilar, exercendo esta ação somente na presença de leucócitos polimorfonucleares. A hipótese destes autores é de que os neutrófilos, respondendo a um sinal químico no tecido, podem controlar a permeabilidade das paredes vasculares sanguíneas às proteínas plasmáticas. Acrescentam ainda que embora estas células estejam presentes em grande número no tecido algumas horas após o início da resposta inflamatória, existem evidências que as mesmas interagem com as células endoteliais para regular a exsudação plasmática dentro de poucos minutos após o estímulo inflamatório.

HIGGS et alii (1981), numa série de experimentos laboratoriais com os leucotrienos, concluíram que:

1. O LTB_4 eleva significativamente o acúmulo de leucócitos em pele de coelhos.

2. O LTB_4 causa aumentos sensíveis na exsudação plasmática após injeção intra-dérmica.

3. Este mesmo leucotrieno demonstrou ser equipotente às prostaglandinas E_2 e I_2 , na potenciação da exsudação plasmática induzida pela bradicinina.

O próprio HIGGS (1984), ratificou estes achados argumentando que os neutrófilos marginam nos vasos sanguíneos inflamados em resposta a estímulos quimiotáticos, especialmente ao LTB_4 , podendo gerar um fator que aumenta a permeabilidade vascular. Segundo o autor, isto pode explicar porque os neutrófilos circulantes são necessários para a formação de edema agudo.

HIGGS & MONCADA (1985), acreditam existir uma grande evidência de que o LTB_4 contribui para a ativação de leucócitos em reações de hipersensibilidade imediata e nas respostas inflamatórias.

ABRAMSON et alii (1984) relatam que os leucócitos polimorfonucleares geram produtos do ácido araquidônico, como as prostaglandinas e leucotrienos, que são responsáveis por intensas

respostas inflamatórias.

FORD-HUTCHINSON (1985), demonstrou que o LTB_4 aumenta significativamente a permeabilidade capilar e, o mais importante, a resposta dolorosa após a injeção em patas de ratos.

Num trabalho de atualização sob o título "Leucotrienos como mediadores da inflamação", FORD-HUTCHINSON (1987) descreve que "in vitro", o leucotrieno B_4 é um potente estimulador da ativação de leucócitos. "In vivo", o LTB_4 é o mediador do recrutamento de leucócitos, das alterações da permeabilidade capilar e das respostas dolorosas.

2. BETAMETASONA

Os corticosteróides são responsáveis por diferentes ações e efeitos farmacológicos, destacando-se aqueles relacionados ao processo inflamatório. Segundo a grande maioria dos pesquisadores, a ação antiinflamatória dos corticosteróides pode ser atribuída a múltiplos mecanismos.

SCHAYER (1974) atribue aos corticóides a habilidade de conter a vasodilatação provocada por cininas vasoativas, como a histamina e bradicinina.

SUGIO & TSURUFUGI (1981) demonstraram, em ratos, que a supressão da exsudação plasmática conseguida através da administração de betametasona, nas doses de 0,03; 0,1 e 0,3 mg/Kg, não é acompanhada por alterações do conteúdo sanguíneo e parece não ser dependente de efeitos vasoconstrictores.

CLAMAN (1983), acredita que os corticosteróides possam antagonizar o sistema das cininas plasmáticas (bradicinina, em especial), o qual possui papel significativo na modulação das respostas vasculares do processo inflamatório.

STOUGHTON (1969), já considerava que a vasoconstrição enérgica produzida pelos corticosteróides constituía-se num importante mecanismo de ação antiinflamatória, servindo inclusive como modelo de estudo para se avaliar a potência de compostos esteróides sintéticos.

Segundo JOHNSON et alii (1982), tal assertiva está

suportada pela ação inibitória dos corticosteróides sobre a síntese de prostaglandinas (potentes vasodilatadoras) pelos fibroblastos da pele, células sanguíneas e endotélio vascular, assim como pela modulação da resposta das células da musculatura vascular lisa aos agentes vasoconstrictores.

CLAMAN (1983), responsável por um cuidadoso artigo de revisão dos mecanismos antiinflamatórios dos corticosteróides, também admite que os mesmos são possuidores de uma ação direta no sistema vascular, quando aplicados tópicamente ou administrados por via sistêmica. Segundo este autor, o extravasamento de células e fluidos do compartimento intravascular para tecidos circunvizinhos, é inibido por estes medicamentos, sendo este efeito consequente à ação vasoconstritora combinada à limitação do tráfico de leucócitos. Além disto, os corticosteróides aumentariam a integridade endotelial vascular e diminuiriam a permeabilidade capilar, reduzindo desta forma a marginalização e adesão de neutrófilos na fase inicial da inflamação. Ainda acrescenta que, possivelmente, o principal mecanismo de ação antiinflamatória dos corticosteróides seja a redução combinada do acúmulo de neutrófilos e monócitos macrófagos no sítio inflamatório.

Prova disto é que duas décadas antes, FRUHMANN (1962), estudando a mobilização de neutrófilos na cavidade peritoneal de ratos, demonstrou que quando os animais eram tratados com corticosteróide, injetado intraperitonealmente, ocorria uma diminuição acentuada do acúmulo destas células, sugerindo um efeito direto da droga sobre a microcirculação sanguínea.

Trabalhos recentes foram acrescentando conhecimentos cada vez mais detalhados sobre os mecanismos de ação antiinflamatória dos corticosteróides.

Um controle múltiplo da inflamação pelos corticosteróides foi proposto por Di ROSA et alii (1985). Reunindo os achados obtidos por sua equipe e pelas de outros pesquisadores (DANON & ASSOULINE, 1978; BLACKWELL et alii, 1980; HIRATA et alii, 1980; JOHNSON et alii, 1982; PARENTE et alii, 1984), estes autores sugeriram que o mecanismo de ação dos corticosteróides está centrado na formação de um complexo receptor-esteróide citoplasmático, que penetrando no núcleo de células-alvo, estimulam um RNA_m que induz a síntese de proteínas efetoras. Tais proteínas seriam as lipocortinas, que inibem a síntese de fosfolipase A₂ e, conseqüentemente, os principais metabólitos do ácido araquidônico (prostaglandinas e leucotrienos), as vasocortinas (que modulam a resposta vascular) e peptídeos que aumentariam os níveis fisiológicos de cininase II (enzima conversora de angiotensina).

A combinação dos efeitos destas proteínas, segundo os pesquisadores, ocorre com o cortisol à níveis fisiológicos como também em doses supra-fisiológicas de corticosteróides sintéticos, podendo ajudar na formulação de uma hipótese aceitável para a compreensão do controle da resposta inflamatória por estes medicamentos.

Com relação aos efeitos dos corticosteróides sobre a migração leucocitária, aspecto de grande interesse a esta pesquisa, a literatura mostra que o número de neutrófilos circulantes no sangue é geralmente aumentado pela administração de corticosteróides em ratos (FRUHMANN, 1962), camundongos (THOMPSON & van FURTH, 1970) e humanos (BOGGS et alii, 1964). Apesar do alto número de neutrófilos circulantes, a maioria dos experimentos têm demonstrado um acúmulo reduzido destas células em áreas inflamadas.

Uma redução marcante da migração celular após a implantação de esponjas plásticas não reabsorvíveis, em ratos, foi observada após doses moderadas (10 mg/Kg) de hidrocortisona (SAXENA, 1960).

ISHIKAWA et alii (1969) trabalharam com a hidrocortisona, prednisolona, triamcinolona e betametasona, concluindo que o efeito inibitório destas drogas sobre a emigração de leucócitos varia de acordo com a potência das mesmas e com a dose empregada.

VINEGAR et alii (1972) empregaram a betametasona (0,2 mg/Kg, via intraperitoneal), obtendo uma diminuição de mais de 50% do número de neutrófilos que foram mobilizados na cavidade pleural de ratos injetados com caolim.

PERPER et alii (1974), usando neutrófilos marcados com Cr^{51} , obtiveram uma inibição substancial (61%) do acúmulo destas células em patas de ratos inflamadas pela carragenina, quando previamente tratados com a parametasona, na dose de 1 mg/Kg, por via oral.

SHEA & MORSE (1978), documentaram a inibição da quimiotaxia de neutrófilos humanos, induzida pelos corticosteróides.

GOLDSTEIN et alii (1976) demonstraram a depressão da função dos neutrófilos, em humanos, após tratamento com corticosteróides.

THIEME et alii (1982), estudaram os efeitos "in vivo" e "in vitro" da dexametasona, sobre a migração de leucócitos em ratos, demonstrando a ocorrência da inibição da migração normal de células mononucleares e polimorfonucleares para a área inflamada. As doses de corticosteróide empregados neste experimento variaram de 0,03 a 0,3 mg/Kg.

ANDRADE (1985), através do método da janela na pele ("Skin Window"), em ratos, observou que a migração leucocitária à área inflamada era drasticamente reduzida, quando os animais eram previamente tratados com a betametasona, em duas doses de 0,05 mg/Kg, com intervalo de 3 horas, via intraperitoneal.

TAYLOR & CLARKE (1986) demonstraram mais uma vez que os corticosteróides inibem a síntese de leucotrienos, dentre eles o LTB_4 , um dos mais potentes agentes quimiotáticos para leucócitos.

Segundo HIGGS & MONCADA (1985), a inibição "in vitro" dos leucotrienos pelos antiinflamatórios não esteróides, nem sempre é comprovada em estudos "in vivo". De acordo ainda com estes autores, somente a BW755L e a dexametasona demonstraram inibir a produção de leucotrienos, "in vivo".

FILEP (1988) reportou que a ação antiinflamatória dos corticosteróides pode ser devida, em grande parte, à capacidade destes medicamentos em diminuir a síntese de LTB_4 pelos leucócitos polimorfonucleares neutrofílicos.

MUNIAIN et alii (1988), argumenta que existe muita similaridade entre os ritmos circadianos do cortisol e dos neutrófilos circulantes. Ambos apresentam valores baixos à noite e altos valores no início do período da manhã. Segundo os pesquisadores, não está determinado ainda se concentrações fisiológicas de cortisol podem inibir a quimiotoxia de neutrófilos.

UTOH et alii (1988), estudando o efeito da cirurgia sobre a função dos neutrófilos, em humanos, concluíram que os neutrófilos no período pós-operatório têm uma alta capacidade de produzir leucotrienos, inclusive o LTB_4 . Por outro lado, baixos níveis de radicais superóxido foram encontrados no mesmo tempo de estudo. Acreditam que tal fato pode ser explicado pelas proporções maiores de neutrófilos imaturos no período pós-operatório.

VIEIRA et alii (1989) prodeceram a estudos hematológicos da série branca em 15 pacientes, submetidos à cirurgias buco-maxilo-faciais, tratados com 20 mg de dexametasona no pós-operatório imediato. Obtiveram um aumento do número total de leucócitos circulantes no sangue no período pós-operatório, sendo que a contagem diferencial destas células mostrou que os neutrófilos eram os responsáveis por tais alterações quantitativas, desde que o número das demais células brancas estava diminuído.

3. DAPIRONA

Na revisão da literatura, alguns trabalhos demonstraram uma ação analgésica da dipirona muito mais potente em relação à aspirina (MUKHERJEE & SUDHA, 1980; PETROVA et alii, 1980), como também ao paracetamol (DAFTARY et alii, 1980).

O sítio de ação analgésica da dipirona ainda é um assunto controverso. Uma ação central foi proposta por VON TOMEK (1955), embora de uma forma não muito esclarecedora (LORENZETTI & FERREIRA, 1985).

Como já citado no capítulo anterior, em virtude da dipirona possuir ação analgésica e antipirética, com atividade anti-edematosa muito discreta ou inexistente, um local de ação à nível do SNC estaria implicado. Esta colocação é aparentemente suportada pelo grande efeito da dipirona sobre as ciclooxigenases do tecido nervoso cerebral, que as de outros tecidos (DEMBINSKAKIEO et alii, 1976).

LORENZETTI & FERREIRA (1985), provavelmente tenham fornecido dados importantíssimos sobre o mecanismo de ação analgésica da dipirona. Os autores empregaram um teste nociceptivo e outro edemogênico, em ratos, pelo qual a hiperalgesia era induzida pela injeção intra-plantar de prostaglandina E_2 , isoprenalina, Db-c AMP e cloreto de cálcio, em doses que proporcionavam o mesmo grau ou intensidade de hiperalgesia (testadas em experimentos pilotos). Foram avaliados os efeitos do ácido acetil salicílico, dipirona, 4-metilaminoantipirina (MAA - metabólito da dipirona), indometacina, cloridrato de morfina e paracetamol). Esta série de ensaios revelaram um inesperado mecanismo de ação analgésica da dipirona, isto é, através de um antagonismo periférico direto da hiperalgesia inflamatória.

A ausência de um efeito anti-edematoso na presença de um significativo efeito antinociceptivo, na resposta inflamatória induzida pela carragenina, levaria a crer que a analgesia fosse devida a um efeito central da dipirona. Entretanto, este local de ação foi descartado, desde que a administração sistêmica de

dipirona, em contraste com a morfina, foi ineficaz em antagonizar a hiperalgesia induzida pelo Db-c AMP.

BRUNE & ALPERMAN (1983) e VOLZ & KELLNER (1980), atribuem a analgesia proporcionada pela dipirona à ação de um de seus metabólitos.

Os experimentos de LORENZETTI & FERREIRA (1985), entretanto, demonstraram que a dipirona tem um efeito analgésico direto, pois a injeção intraplantar deste fármaco propiciou um potente efeito antagônico sobre a hiperalgesia induzida pela PGE_2 , isoprenalina e cloreto de cálcio, apesar deste efeito analgésico local ter sido menos pronunciado que aquele induzido pelo seu metabólito ativo, 4-metilaminoantipirina (MAA).

NIKOLOV et alii (1980), sugeriram que a analgesia pela dipirona resulta de um antagonismo dos efeitos da PGE_2 . Mais uma vez, LORENZETTI & FERREIRA (1985) provam ao contrário, desde que a dipirona bloqueia também a hiperalgesia induzida por outras substâncias, como a isoprenalina e o cloreto de cálcio, sugerindo uma ação direta sobre o mecanismo hiperalgésico, do que uma ação no receptor específico que permite o efeito da PGE_2 .

Segundo a hipótese de MONCADA et alii (1978), a dor inflamatória resulta da ação concomitante de 2 tipos distintos de estimulação dos nociceptores:

1. Um mecanismo ativa diretamente o influxo de Sódio (Na^+), e é responsável pela iniciação da ativação do receptor (bradicinina, histamina, estimulação mecânica ou térmica).

2. O segundo tipo de estimulação não gera atividade do nociceptor, mas facilita sua ativação. Ele seria provavelmente devido a eventos metabólicos que ocorrem no receptor, como ficou posteriormente demonstrado por FERREIRA & LORENZETTI (1981), estando associado com um aumento da concentração de AMP cíclico e cálcio (FERREIRA & NAKAMURA, 1979).

Neste contexto, a PGE_2 e a PGI_2 (prostaciclina), liberadas durante a inflamação, podem agir como um receptor de membrana ativando a adenilciclase e/ou promovendo o influxo de cálcio. Diante de tais considerações, LORENZETTI & FERREIRA (1985) admitem que a dipirona possa agir de duas maneiras:

1. Inibindo a ativação da adenilciclase pelas substâncias hiperalgésicas (PGE_2 e PGI_2).

2. Causando um bloqueio direto do influxo de Cálcio para dentro do nociceptor.

Com relação especificamente à ação da dipirona sobre o tráfico de leucócitos, MATZNER et alii (1984) afirmam que tal assunto nunca foi bem estudado, como também o metabolismo deste medicamento ainda não se encontra plenamente estabelecido. A absorção da dipirona é iniciada através de sua hidrólise a 4-metilaminoantipirina (MAA). Além desse, outros metabólitos importantes da dipirona são a 4-aminoantipirina (AA), 4-formilaminoantipirina (FAA) e 4-acetilaminoantipirina (AAA). MATZNER et alii (1984), demonstraram que os metabólitos MAA e FAA inibem a migração randomizada de neutrófilos, assim como a quimiotaxia direta destas células, usando o soro ativado com zymosan como fator quimiotático, preparado de doadores humanos saudáveis.

Segundo estes autores, o efeito destes metabólitos da dipirona é relativamente fraco; assim, as implicações clínicas deste achado permanecem questionáveis. O efeito anti-quimiotático, entretanto é evidente e marcante após o uso de concentrações de 1 grama de dipirona, "in vivo". Argumentam ainda que este fato pode explicar o fenômeno clínico já aceito, que os pacientes tratados com a dipirona não são suscetíveis às infecções bacterianas recorrentes. Destacam, por outro lado, que os leucócitos podem sobrepujar o bloqueio induzido pela droga, quando concentrações suficientemente altas do agente quimiotático são empregadas.

WEITHMANN & ALPERMANN (1985), realizaram um rastreamento dos efeitos farmacológicos dos metabólitos da dipirona, em modelos de estudo relacionados com a cascata do ácido araquidônico. Em outras palavras, os metabólitos da dipirona (MAA, AA, FAA e AAA), foram comparados com drogas padrões apropriadas, quanto aos seus efeitos nas vias de metabolismo do ácido araquidônico e seus produtos, chegando-se às seguintes conclusões:

1. As drogas estudadas não têm efeito significativo na via lipoxigenase (e, conseqüentemente, na geração de LTB₄ e 5-HETE), em neutrófilos humanos, "in vitro".

2. Os metabólitos MAA e AA inibem a síntese de prostaglandinas nas altas concentrações de 10^{-3} a 10^{-4} mol/l, comparável à inibição provocada pelo ácido acetil salicílico. Os outros dois metabólitos são praticamente inativos.

3. Estes resultados suportam o conceito de que a MAA e a AA se constituem nos metabólitos responsáveis pelos efeitos clínicos da dipirona.

4. A MAA exibe atividade antiagregatória plaquetária (IC₅₀ igual a 5×10^{-6} mol/l), enquanto seus efeitos na síntese de prostaciclina pelas células endoteliais são muito fracos.

III. PROPOSIÇÃO

Admitindo-se o conceito de que os leucócitos, mais especificamente os neutrófilos, constituem-se numa das principais células efetoras da resposta inflamatória aguda, participando de forma direta ou indireta na geração do edema e da dor, propõe-se neste trabalho:

1. Comprovar o efeito inibitório da betametasona sobre a migração leucocitária, em camundongos, quando administrada na dose única de 0,1 mg/Kg de peso corporal.
2. Avaliar a ação da dipirona sobre o mesmo evento inflamatório, quando empregada na dose única de 19 mg/Kg.
3. Da mesma forma, quantificar a migração de leucócitos na cavidade peritoneal dos animais, quando tratados com a associação de betametasona e dipirona, nas doses únicas acima descritas.
4. Procurar relacionar os efeitos destes medicamentos, associados ou não, sobre a cinética dos leucócitos, com seus respectivos mecanismos de ação analgésica e/ou antiedematosa.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

1. SELEÇÃO DOS ANIMAIS

Foram utilizados nesta pesquisa 40 camundongos (M. musculus) adultos, machos, pesando entre 23 e 27 g, provenientes do Biotério Central da UNICAMP. Os mesmos vinham sendo alimentados com ração balanceada padrão (PRODUTAR[®], Anderson Clayton S/SAD) e água à vontade.

2. GRUPOS DE ESTUDO E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 04 grupos de estudo, cada um com 10 camundongos. Após a antissepsia da parede abdominal com isopropanol a 70%, foram injetados, por via intraperitoneal, com as seguintes preparações distintas:

- Grupo I - solução salina (NaCl a 0,9%), num volume equivalente àqueles empregados nos demais grupos. Desta forma, constituiu-se no Grupo CONTROLE.
- Grupo II - betametasona (CELESTONE INJETÁVEL[®] - Schering S/A - Ind. Química e Farmacéutica), na dose única de 0,1 mg/Kg de peso corporal.
- Grupo III - dipirona (NOVALGINA INJETÁVEL[®] - Hoechst do Brasil Química e Farmacéutica S/A), na dose única de 19 mg/Kg de peso corporal.
- Grupo IV - betametasona e dipirona, nas doses únicas respectivas de 0,1 mg/Kg e 19 mg/Kg de peso corporal.

Exatamente 1 hora após os tratamentos acima descritos, de acordo com o grupo de estudo, todos os animais foram injetados com 0,1 ml de uma solução (10 mg/ml) de ovoalbumina (Albumin avs Eiern, Erg. Bb (Piedel - de Haën), via intraperitoneal, com o objetivo de estimular a emigração de leucócitos da corrente

sanguínea para a cavidade peritoneal. Todos estes procedimentos foram realizados sob rigorosas condições de assepsia, prevenindo-se assim a contaminação da cavidade peritoneal dos animais em estudo.

Decorridas 5 horas da injeção de ovoalbumina, procedeu-se então ao sacrifício dos animais e colheita do fluido peritoneal, obedecendo-se aos seguintes passos técnicos, modificados em parte do modelo de estudo descrito por FRUHMANN (1964):

a. Anestesia geral profunda, através da inalação de éter sulfúrico.

b. Sacrifício dos animais, através da secção dos vasos sanguíneos do pescoço, deixando-se o sangue fluir naturalmente.

c. Fixação dos animais à mesa operatória.

d. Exposição cirúrgica da cavidade peritoneal, através de uma incisão linear da pele (região abdominal) e divulsão dos tecidos até a altura do esterno. Neste ponto, procedeu-se a uma nova incisão, relaxante, em direção ao operador.

e. Fixação, à mesa cirúrgica, da pele rebatida, de modo a formar uma bolsa com a parede peritoneal externa.

f. Injeção intraperitoneal de um volume constante de 3 ml de uma solução de PBS (Phosphate Buffered Saline) heparinizada, empregando-se para tal fim uma seringa de 5 ml e agulha hipodérmica de fino calibre (13 x 3,8).

g. Massageamento delicado dos limites da cavidade peritoneal, pelo tempo de 10 segundos.

h. Colheita do fluido peritoneal com uma seringa de plástico de 5 ml e agulha hipodérmica de grosso calibre (40 x 12). Para tal, introduziu-se a mesma na parte mais alta da cavidade peritoneal, em direção à bolsa formada até atingir-se o meio desta, evitando-se deste modo o contato da agulha com os tecidos da cavidade abdominal (intestinos, mesentério, epíplon, etc.). Aspirou-se cuidadosamente o fluido peritoneal, obedecendo-se sempre o volume padrão de 2 ml para cada animal.

i. Deste volume, separou-se 0,9 ml em tubos de ensaio contendo 0,1 ml de solução de TURK, homogeneizando-se. O volume

restante do material obtido foi desprezado.

Entre a colheita de material de um animal para outro, tomou-se o cuidado de lavar a agulha com água destilada (duas vezes), solução de PBS (duas vezes) e solução de PBS/heparina (uma vez), sempre nesta ordem.

3. LEITURA DOS RESULTADOS

Com o auxílio de uma câmara de Neubauer dupla espelhada e de um microscópio óptico (ZEISS - West Germany), procedeu-se à contagem global de leucócitos, empregando-se um aumento de 400 X. Devido à grande quantidade destas células na amostra, a quantificação das mesmas foi efetuada levando-se em consideração o número relativo de leucócitos situados no campo quadrado central da câmara de Neubauer.

Para a contagem diferencial de neutrófilos, colocou-se uma quantidade padronizada da amostra em lâminas histológicas. Após a sedimentação das células, a leitura foi feita ao microscópio óptico, em imersão, no aumento de 1000 X.

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores obtidos para a contagem global de leucócitos, e diferencial para neutrófilos, por grupo estudado, foram tratados estatisticamente através de uma análise de variância e aplicação do teste de TUKEY, à um nível de significância de 5%.

§ OBS.: A composição, bem como os cuidados na preparação das soluções de ovoalbumina, PBS, PBS-heparina e líquida de TURK encontram-se detalhados no Apêndice deste trabalho.

V. RESULTADOS

Como era esperado, 5 horas após a injeção do agente quimiotático para leucócitos (ovoalbumina), e obedecidos os demais procedimentos descritos no capítulo anterior, o fluido peritoneal dos 40 camundongos apresentou um grande número destas células, permitindo sua quantificação.

1. CONTAGEM GLOBAL DE LEUCÓCITOS

Os dados correspondentes à contagem global de leucócitos (em números relativos), por animal estudado, e seus respectivos valores médios, dentro de cada grupo experimental, encontram-se expressos na Tabela 1.

Tabela 1 - Contagem global de leucócitos (em números relativos), por animal estudado, e seus valores médios, dentro de cada grupo experimental.

Animal	GRUPO			
	I Controle	II Betametasona	III Dipirona	IV Dipirona + Betametasona
01	184	118	243	161
02	186	87	241	147
03	176	116	256	260
04	171	112	253	251
05	168	146	238	130
06	153	126	196	130
07	180	86	250	102
08	173	105	225	128
09	186	119	178	168
10	170	120	163	129
Média	176,9	113,5	224,3	160,6

Os dados constantes na Tabela 1 foram submetidos à uma análise de variância com um critério de classificação, apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 - Análise de variância, relativa aos dados da Tabela 1.

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Grupo	3	62711,875	20903,958	19,12
Resíduo	36	39349,925	1093,053	
Total	39	102061,8		

O valor de F, apresentado na Tabela 2, é significativo ao nível de 5%. Para comparar as médias de grupos, duas a duas, foi aplicado o teste de Tukey. O valor da diferença mínima significativa (d.m.s.), ao nível de 5% de significância, é 39,83. Com base neste resultado, pode-se afirmar que, em média, o número de leucócitos computados no fluido peritoneal dos animais do Grupo III, tratados com dipirona, é maior do que aquele obtido nos animais dos Grupos I, II e IV (respectivamente tratados com salina, betametasona e associação dipirona-betametasona). Também pode-se afirmar que, em média, os valores obtidos para o Grupo I (controle), são maiores que aqueles anotados para o Grupo II (betametasona).

A Figura 1, na página seguinte, ilustra a grandeza relativa das médias:

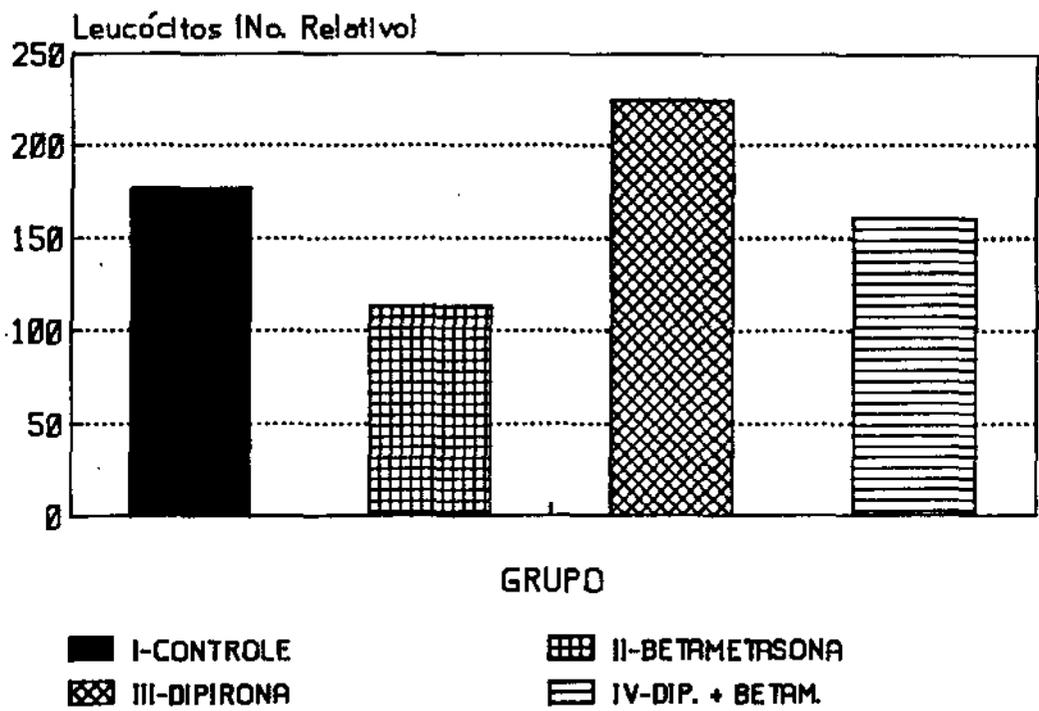


FIGURA I - Valores médios do número relativo de leucócitos, por grupo experimental.

2. CONTAGEM DIFERENCIAL PARA NEUTRÓFILOS

Os dados relativos à contagem diferencial para neutrófilos (expressos em porcentagem), por animal estudado, e seus respectivos valores médios, dentro de cada grupo experimental, encontram-se expressos na Tabela 3.

Tabela 3 - Contagem diferencial para neutrófilos (em porcentagem), por animal estudado, e seus valores médios, dentro de cada grupo experimental.

Animal	GRUPO			
	I Controle	II Betametasona	III Dipirona	IV Dipirona + Betametasona
01	28	30	32	35
02	30	27	29	31
03	24	26	35	29
04	28	27	27	31
05	22	32	29	28
06	30	22	31	26
07	33	24	26	33
08	32	19	29	27
09	30	25	30	28
10	30	23	29	29
Média	28,7	25,5	29,6	29,7

Os dados constantes na Tabela 3 foram submetidos a uma análise de variância com um critério de classificação, apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 - Análise de variância, relativa aos dados da Tabela 3.

Causas de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Grupo	3	116,28	38,76	3,82
Resíduo	36	365,1	10,14	
Total	39	481,38		

O valor de F, apresentado na Tabela 4, é significativo ao nível de 5%. Para comparar as médias de grupos, duas a duas, foi aplicado o teste de Tukey. O valor da diferença mínima significativa (d.m.s.), ao nível de 5% de significância, é 3,83. Com base neste resultado, pode-se afirmar que, em média, o número de neutrófilos computados no fluido peritoneal dos animais dos Grupos I, III e IV (tratados com salina, dipirona e dipirona - betametasona, respectivamente), é maior que aquele obtido nos animais do Grupo II, tratados com betametasona. Também pode-se afirmar que, em média, os valores correspondentes aos Grupos III e IV (dipirona e dipirona-betametasona), são maiores que aqueles obtidos para o Grupo I (controle), tratados com solução salina.

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

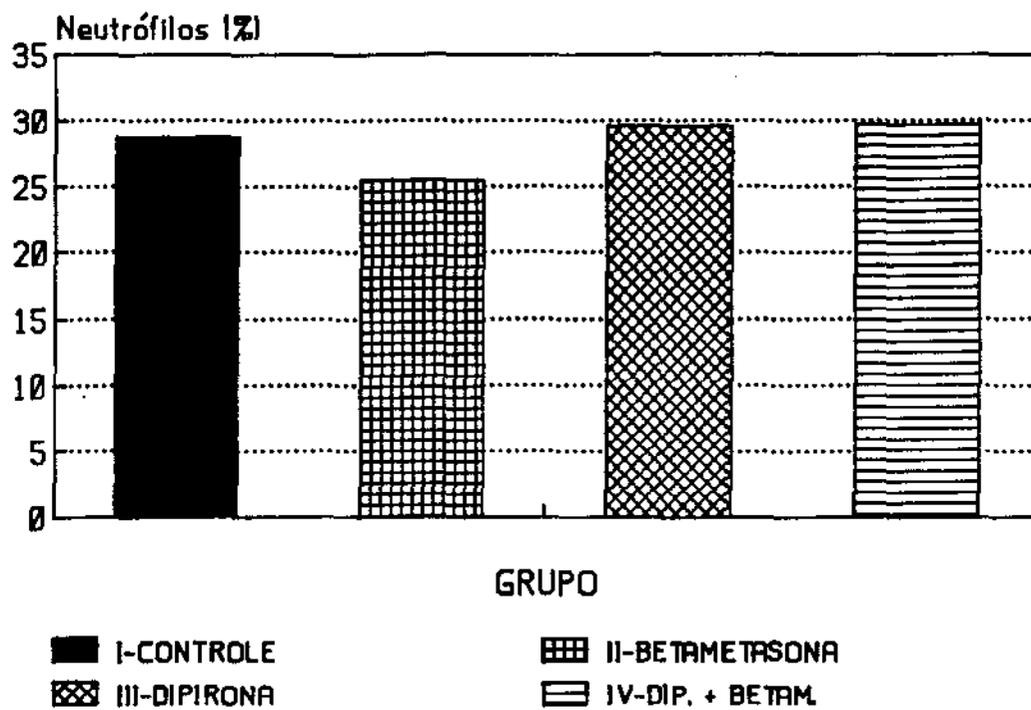


FIGURA 2 - Valores médios da contagem diferencial para neutrófilos, (em %), por grupo experimental.

VI. DISCUSSÃO

Segundo Di ROSA (1979), desde os experimentos clássicos de Metchnikoff, a cavidade peritoneal de animais de laboratório tem sido um dos locais favoritos para o estudo das reações inflamatórias. Os leucócitos emigram na cavidade peritoneal após a injeção local de um agente irritante. Em diferentes intervalos de tempo, usualmente entre 3 a 24 hs, células podem ser colhidas do fluido peritoneal e sua contagem total e diferencial, determinada.

Diferentes espécies animais (Ratos, cobaias, camundongos) e vários tipos de irritantes têm sido empregados (Óleo mineral, endotoxinas bacterianas, glicogênio, caseína, ovalbumina, etc.). Ainda de acordo com Di ROSA (1979), a despeito da simplicidade da técnica, a cavidade peritoneal tem sido atualmente pouco empregada para se estudar o efeito de drogas anti-inflamatórias na exsudação celular.

FRUBMAN (1974), argumenta que realmente existe uma grande dificuldade em se quantificar os leucócitos em cortes histológicos. Tais células se distribuem desigualmente pelos tecidos e, mesmo sob condições ideais, os procedimentos para enumerá-los são lentos e tediosos. Em contraste, as células livres do fluido peritoneal são ideais para estudos morfológicos e quantitativos. Segundo este autor, existem várias razões pelas quais o fluido peritoneal do camundongo é excelente para o estudo dos leucócitos extravasculares, ou sejam:

- 1^o) No camundongo não estimulado, o número e tipos de células livres do fluido peritoneal são praticamente constantes. Embora alterações rápidas e dramáticas possam ocorrer na população celular após manipulação experimental, o sistema se reequilibra e a mesma tende a retornar a níveis normais. Assim, o fluido peritoneal do camundongo parece estar sob controle de mecanismos homeostáticos.
- 2^o) Substâncias injetadas intraperitonealmente provocam

primariamente uma resposta celular local. Com certeza, nenhum compartimento do organismo pode ser considerado como sendo totalmente fechado ou isolado. Se a cavidade peritoneal for inundada com grande quantidade de fluídos ou outras substâncias, sua utilidade para se estudar uma resposta local pode ser perdida. Por outro lado, quando pequenas quantidades de substâncias são injetadas intraperitonealmente, algum remanescente fica localizado dentro da cavidade peritoneal por um longo período de tempo.

- 3^ª) Os camundongos parecem depender mais de fatores celulares do que humorais em defender a cavidade peritoneal de vários tipos de estímulos.
- 4^ª) Desde que o fluído peritoneal de camundongos não estimulados contém poucos neutrófilos, este é um sítio ideal para se detectar e quantificar o influxo destas células, mesmo em pequeno número.

Analisando-se os resultados da presente pesquisa, pôde-se constatar que a contagem global de leucócitos, e diferencial para neutrófilos, na cavidade peritoneal dos camundongos, de acordo com o tratamento empregado, apresentou valores diferentes, estatisticamente significantes ou não.

Os achados pertinentes ao Grupo I (Controle), relativos aos animais injetados com solução salina, permitem deduzir que a resposta leucocitária caracterizada pela emigração e acúmulo destas células na cavidade peritoneal, foi devida principalmente à ação da ovalbumina, em decorrência de suas propriedades quimiotáticas e irritativas. Provavelmente, numa segunda etapa, os próprios leucócitos passam ter potenciado tal fenômeno, através da geração de prostaglandinas e leucotrienos, que têm propriedades quimiotáticas. É importante destacar-se que a possível ação irritante da agulha hipodérmica, bem como uma efêmera ação quimiotática da solução salina, são desprezíveis, como já demonstrado experimentalmente por FLEISMAN (1960), em camundongos.

Como era esperado, o fluído peritoneal dos animais tratados com a betametasona apresentou um menor número de

leucócitos, se comparado ao Grupo Controle, injetados com solução salina. Estes resultados, estatisticamente significantes, estão de acordo com aqueles obtidos por vários autores que trabalharam com diferentes modelos de estudos e corticosteróides, porém com o mesmo objetivo (FRUHMANN, 1964; ISHIKAWA et alii, 1969; VINEGAR et alii, 1972; WATNICK et alii, 1974; PERPER et alii, 1974; GOLDSTEIN et alii, 1976; SHEA & MORSE, 1978; THIEME et alii, 1982; ANDRADE, 1985). Cumpre-se ressaltar que a dose única de 0,1 mg/Kg de betametasona já foi testada em experimentos anteriores, "in vivo" (SUGIO & TSURUFUGI, 1981; THIEME et alii, 1982), demonstrando atividade antiflogística.

A explicação para o efeito inibitório da betametasona sobre a cinética de leucócitos, pode ser devida à duas ações farmacológicas deste medicamento, provavelmente interdependentes. A primeira, caracterizada pela propriedade atribuída aos corticosteróides em conter a vasodilatação e o aumento da permeabilidade capilar (FRUHMANN, 1964; STOUGHTON, 1969 e SCHAYER, 1974), através de mecanismos conjuntos como a antagonização do sistema de cininas plasmáticas (CLAMAN, 1983), atenuação da liberação de prostaglandinas (JOHNSON et alii, 1982) e pela indução da síntese de vasocortina (Di ROSA, 1985).

A segunda ação farmacológica que poderia explicar a ação anti-quimiotática da betametasona refere-se à sua habilidade de diminuir a geração de leucotrienos pelos leucócitos, especialmente o LTB_4 , que constitui-se num potente agente quimiotático para tais células sanguíneas. Este conceito encontra suporte nos trabalhos de HIGGS & MONCADA (1985), TAYLOR & CLARKE (1986) e FILEP (1988), entre outros, mais recentes. Em outras palavras, acredita-se que quando a ovalbumina foi injetada intraperitonealmente nos animais deste Grupo, apesar da ação da betametasona sobre a microvasculatura sanguínea da região, muitos leucócitos ainda emigraram e acumularam-se na cavidade peritoneal. Uma vez neste local, e na presença do corticosteróide, os mesmos tiveram diminuída sua capacidade de gerar os leucotrienos B_4 e, conseqüentemente, atrair mais células similares para a cavidade peritoneal.

No que diz respeito à contagem diferencial para neutrófilos, a quantificação percentual destas células no fluido peritoneal foi menor quando os animais eram tratados com a betametasona, sendo esta diminuição estatisticamente significativa, quando comparada aos animais do Grupo Controle. Estes dados permitem sugerir que o corticosteróide sintético empregado possa promover uma ação anti-quimiotática mais pronunciada sobre os polimorfonucleares neutrofilicos.

De acordo com os dados da Tabela 1, a contagem global de leucócitos da cavidade peritoneal dos camundongos tratados com a dipirona, foi significativamente maior que aquela computada para os animais dos demais grupos experimentais.

Estes resultados contrariam aqueles obtidos por VOLZ & KELLNER (1980), os quais demonstraram um efeito anti-quimiotático da dipirona, empregada "in vivo" em humanos, na concentração de 1 g.

Também não encontram suporte no trabalho de MATZNER et alii (1984), apesar destes autores terem ensaiado com os metabólitos da dipirona, num estudo "in vitro", em concentrações compatíveis com os níveis plasmáticos obtidos em uso clínico.

A dose de 19 mg/Kg de dipirona, via intraperitoneal, empregada no presente trabalho constitui-se na DE_{50} para bloquear a hiperalgesia em ratos, estabelecida por LORENZETTI e FERREIRA (1985). Segundo estes pesquisadores, a DE_{50} de dipirona para bloquear o edema intraplantar em ratos é igual a 180 mg/Kg, ou seja, quase dez vezes maior que a dose analgésica.

Desta forma, deduz-se que a dipirona, na dose de 19 mg/Kg, não possui a propriedade de inibir a síntese de prostaglandinas e leucotrienos e, em decorrência, limitar a exsudação plasmática ou a emigração leucocitária. Este conceito é amparado pelos experimentos de WEITHMAN & ALPERMANN (1985) e os de LORENZETTI & FERREIRA (1985), que só conseguiram demonstrar uma ação antiinflamatória da dipirona quando este medicamento era empregado em altas concentrações.

Sugere-se então a hipótese de que, após a injeção local de ovoalbumina, e na presença da dipirona, ocorreu um maior

acúmulo de leucócitos na cavidade peritoneal em relação aos quantificados nos demais grupos experimentais, provavelmente por 2 mecanismos:

1. A própria dipirona, injetada intraperitonealmente, pode ter agido como um fator quimiotático para os leucócitos, somando seus efeitos àqueles induzidos pela ovoalbumina.
2. A dipirona, após atingir níveis plasmáticos adequados, pode ter estimulado a medula óssea em liberar mais neutrófilos e monócitos para a corrente sanguínea. Estas células, uma vez encontrando os vasos sanguíneos mais permeáveis na cavidade peritoneal, em função do estímulo provocado pela ação da ovoalbumina, teriam emigrado e acumulado neste local, em maior número.

O fato da contagem global de leucócitos, no grupo de animais tratados com a associação betametasona-dipirona, não diferir significativamente dos valores obtidos para o Grupo Controle parecem reforçar os argumentos emitidos até agora, desde que tal fenômeno deve ter ocorrido em virtude do "balanço" entre a atividade anti-quimiotática da betametasona e, possivelmente, a pró-quimiotática da dipirona.

Finalmente, acredita-se ser importante destacar que os resultados deste trabalho, como um todo, ratificam os conceitos de pesquisas e artigos de revisão anteriores, relativos aos distintos mecanismos de ação analgésica e/ou antiinflamatória das drogas estudadas.

Parece estar bem estabelecido que os neutrófilos constituem-se nas principais células efetoras da resposta inflamatória aguda. Por um lado, são responsáveis diretas ou indiretas pela formação do exsudato e conseqüente edema. Paralelamente, admite-se que quando estas células emigram da corrente circulatória para o local inflamado, em grande quantidade, a liberação de enzimas lisossomais e a produção de radicais oxigenados livres tornem-se fenômenos mais destrutivos do que protetores do organismo, gerando mais inflamação e, conseqüentemente, dor inflamatória.

FERREIRA (1990), propõe atualmente uma nova classificação para as drogas analgésicas de ação periférica, baseada no mecanismo de ação das mesmas. Enquadra os corticosteróides, dentre eles a betametasona, como medicamentos que previnem a sensibilização do nociceptor, através da indução da síntese de proteínas inibitórias de produtos do metabolismo do ácido araquidônico (prostaglandinas e leucotrienos), de comprovada participação nos complexos mecanismos da cinética dos leucócitos, da formação de edema e da hiperalgesia.

Com relação à dipirona, este mesmo autor classifica-a como um analgésico de ação periférica que deprime o nociceptor, através de mecanismos que diminuem o influxo de cálcio para o interior desta estrutura, ou inibindo a ativação da adenilciclase pelas substâncias hiperalgésicas já formadas.

Pode-se deduzir do que foi dito, que a betametasona estaria indicada como medicação pré-operatória, objetivando o controle das manifestações da inflamação, incluindo a dor. De outra forma, a dipirona teria uma aplicação clínica mais efetiva em processos dolorosos já instalados. Aceito isto, parece não haver impedimento quanto ao uso clínico da betametasona na prevenção do edema e da dor inflamatória aguda, quando a expectativa é de que tais manifestações sejam de grande intensidade e, numa segunda etapa, administrar-se a dipirona com o objetivo de controlar a dor residual pós-operatória.

Entende-se que os resultados aqui obtidos e discutidos, longe de serem conflitantes, podem, ao contrário, contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos de ação da betametasona e da dipirona e suas indicações terapêuticas; outros ensaios, laboratoriais ou clínicos, poderão fazer parte de futuros trabalhos, na tentativa de esclarecer de forma decisiva alguns aspectos ainda não bem compreendidos.

VII. CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados obtidos e na discussão dos mesmos, dentro das condições experimentais do presente trabalho, pode-se concluir que:

1. A betametasona, quando administrada na dose única de 0,1 mg/Kg, via intraperitoneal, em camundongos, diminui significativamente a emigração de leucócitos e, em especial, de neutrófilos polimorfonucleares.
2. A dipirona, ao contrário, proporciona um aumento significativo do número destas células sanguíneas, que emigraram para a cavidade peritoneal de camundongos, quando injetada previamente no local, na dose única de 19 mg/Kg.
3. O tratamento com a associação de betametasona e dipirona, nas doses únicas acima citadas, não interfere na cinética dos leucócitos, em termos quantitativos, na mesma espécie animal.
4. É muito provável que as ações antiálgica e antiedematosa da betametasona estejam relacionadas com sua propriedade de reduzir o acúmulo de leucócitos (principalmente neutrófilos) no local inflamado, entre outros mecanismos. Inversamente, a ação analgésica da dipirona deve ser atribuída a mecanismos outros, que não aquele relacionado com a diminuição da migração leucocitária.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar, comparativamente, os efeitos da betametasona e dipirona, administradas isoladamente e em associação, sobre a migração leucocitária em cavidade peritoneal de camundongos.

Os resultados demonstraram que a betametasona, quando empregada na dose única de 0,1 mg/Kg, diminuiu significativamente a emigração de leucócitos e, especificamente, de neutrófilos. Ao contrário, a dipirona proporcionou um aumento da emigração destas células sanguíneas, quando injetada na dose única de 19 mg/Kg. O tratamento com a associação de betametasona e dipirona, nas doses únicas respectivas citadas, não interferiu na cinética dos leucócitos, na mesma espécie animal.

À partir destes resultados, pode-se sugerir que as ações antiálgica e anti-edematosa da betametasona podem ser atribuídas, entre outros mecanismos, à propriedade deste medicamento em inibir a emigração e o acúmulo de leucócitos na região inflamada. Por outro lado, a ação analgésica da dipirona, deve estar relacionada a outros mecanismos, não relacionados com a leucodiapedese.

SUMMARY

The purpose of this paper was to compare the betamethasone and dipyrrone effects, administered in an isolated manner and in association, upon the leukocytes migration, in mice peritoneal cavity.

The results showed that betamethasone, when employed in single dose (0,1 mg/Kg), lead to a significant decrease of leukocytes migration, in special, of neutrophils PMNs. Contrarily, dipyrrone increase the migration of this blood cells, when injected in single dose of 10 mg/Kg. The treatment with the betamethasone - dipyrrone association, in the same doses described, doesn't have effects upon leukocytes kinetics.

From these results, it was concluded that the antialgic and antioedematous actions of betamethasone can be explained, beyond other mechanisms, through the property of this drug to inhibit the leukocytes migration and accumulation in inflamed tissues. In the other hand, the analgesic action of dipyrrone, probably, is not related with leukodiapedesis reduction.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ABRAMSON, S.; EDELSON, H.; KAPLAN, H.; LUDEWIG, R.; WEISSMAN, G. Inhibition of neutrophil activation by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Am. J. Med., 15: 3-6, 1984.
02. ANDRADE, E.D. Efeitos antiinflamatórios da betametasona em preparações e posologias diferentes. Estudo experimental. Piracicaba, 1985. 87 p. [Tese (Doutoramento) - FOP-UNICAMP].
03. BABIOR, B.M. Oxygen dependent microbial killing by phagocytes. New Engl. J. Med., 298(12): 659-68, 1978.
04. BERMAN, L. Dentinal sensitivity and hypersensitivity. J. Periodont., 56: 216-22, 1985.
05. BLACKWELL, G.J.; CARNUCCIO, R.; DI ROSA, M.; FLOWER, R.J.; PARENTE, L.; PERSICO, P. Macro cortin: a polypeptide causing the anti-phospholipase effect of glucocorticoids. Nature, Lond., 287: 147-9, 1980.
06. BOGGS, D.R.; ATHENS, J.W.; CARTWRIGHT, G.E.; WINTROBE, M.M. The effect of adrenal glucocorticosteroids upon the cellular composition of inflammatory exudates. Am. J. Path., 44: 763-73, 1964.
07. BRANNSTROM, M. The hydrodynamic theory of dentinal pain: sensation in preparations, caries and the dentinal crack syndrome. J. Endodont., 12: 453-7, 1986.

08. BRANNSTROM, M.; JOHNSON, G.; NORDENWALL, K. Transmission and control of dentinal pain: resin impregnation for the desensitization of dentin. J. Am. dent. Ass., 96: 612, 1979.
09. BRUNE, K. & ALPERMANN, U. Non-acidic pyrazoles: inhibition of prostaglandin production, carrageenin oedema and yeast fever. Ag. Actions, 13(4): 360, 1983.
10. CLAMAN, H.N. Glucocorticosteroids I: anti-inflammatory mechanisms. Hosp. Pract., 18(7): 123-34, 1983.
11. DAFTARY, S.N.; MEHTA, A.C.; NANAVATI, M. A controlled comparison of dipyrene and paracetamol in post-episiotomy pain. Apud LORENZETTI, B.B. & FERREIRA, S.H. op. cit. ref. 41.
12. DANON, A. & ASSOULINE, G. Inhibition of prostaglandin biosynthesis by corticosteroids requires RNA and protein synthesis. Nature, Lond., 273: 552-4, 1978.
13. DAYTON, R.; De MARCO, T.; De MARCO, D. Treatment of hypersensitive root surfaces with dental adhesive materials. J. Periodont., 45: 873-80, 1974.
14. DEMBINSKA-KIEO, A.; ZMUDA, A.; KRUPINSKA, I. Inhibition of prostaglandin synthetase by aspirin-like drugs in different microsomal preparations. Apud LORENZETTI, B.B. & FERREIRA, S.H. op. cit. ref. 41.
15. Di ROSA, M. Inhibition of cell migration in vivo and granuloma formation. In: VANE, J.R. & FERREIRA, S.H., eds. Antiinflammatory drugs, Berlin, Springer-Verlag, 1979. cap. 27, p. 223-254.
16. DI ROSA, M.; CALIGNANO, A.; CARNUCCIO, R.; IALENTI, A.;

SAUTEBIN, L. Multiple control of inflammation by glucocorticoids. Ag. Actions., 17: 284-9, 1985.

17. DOWELL, P.; ADDY, M.; DUMMER, P. Dentine hypersensitivity: aetiology, differential diagnosis and management. Br. dent. J., 158: 92-6, 1985.
18. FERREIRA, S.H. A classification of peripheral analgesics based upon their mode of action. In: SANDLER, M. & COLLINS, G.M. Migraine: spectrum of ideas. Oxford, University Pr., 1990. p. 59-72.
19. FERREIRA, S.H. Uma visão do processo inflamatório e seu controle terapêutico. Porto Alegre, Fac.Med. - PUC, 1980. (Apostila).
20. FERREIRA, S.H. & LORENZETTI, B.B. Prostaglandin hyperalgesia, IV: a metabolic process. Prostaglandins, 21: 39, 1981.
21. FERREIRA, S.H. & NAKAMURA, H. Prostaglandin hyperalgesia, a cAMP/Ca⁺⁺ dependent process. Prostaglandins, 18: 179, 1979.
22. FILLIP, J. Leukotrienes and prostroids in health and disease. Drugs Today, 11(2): 139-42, 1983.
23. FORD HUTCHINSON, A.W. Leukotrienes as mediators of inflammation. INSTITUTE FOR SCIENTIFIC INFORMATION. Atlas of Science: Pharmacology, 1987, p. 25-28.
24. FORD-HUTCHINSON, A.W. Leukotrienes: their formation and role as inflammatory mediators. Fedn. Proc. Fedn. Am. Soc. Exp. Biol., 44: 26-9, 1985.
25. FRUMKIN, G.J. Adrenal steroids and neutrophil mobilization. Circ., 20: 355-63, 1962.

26. FRUHMANN, G.J. Extravascular mobilization of neutrophils. Ann. N.Y. Acad. Sci., 113: 968-1002, 1964.
27. GLADTKE, E. Use of antipyretic analgesics in the pediatric patient. Am. J. Med., 14: 121-6, 1983.
28. GOETZL, E.J. & PICKETT, W.C. The human PMN leukocyte chemotactic activity of complex hydroxy-eicosatetraenoic acids (HETEs). J. Immun., 125: 1789-91, 1980.
29. GOLDSTEIN, I.M.; ROOS, D.; WEISSMAN, G.; KAPLAN, H.B. Influence of corticosteroids on human polymorphonuclear leukocyte function in vitro. Inflammation, 1: 305-15, 1976.
30. HARGREAVES, K.M.; TROULLOS, E.S.; DIONNE, R.A. Pharmacologic rationale for the treatment of acute pain. Dent. Clin. N. Am., 31(4): 675-94, 1987.
31. HARLAN, J.M.; KILLEN, P.D.; HARKER, L.A.; STRIKER, G.E. Neutrophil-mediated endothelial injury in vitro. J. clin. Invest., 68: 1394-403, 1981.
32. HENCH, P.S.; KENDALL, E.C.; SCOLUMB, C.H.; POOLEY, H.F. Effect of a hormone of the adrenal cortex (17 hydroxy-11-dehydrocorticosterone: compound E) and of pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatoid arthritis. Preliminary report. Proc. Staff. Meet. Mayo. Clin., 24: 181, 1949.
33. HIGGS, G.A. Acute oedema formation in neutropenic rats. Apud HIGGS, G.A. & MONCADA, S. op. cit. ref. 34.
34. HIGGS, G.A. & MONCADA, S. Leukotrienes in disease. Implications for drug development. Drugs, 30: 1-5, 1985.

35. HIGGS, G.A.; SALMON, J.A.; SPAYNE, J.A. The inflammatory effects of hydroperoxy and hydroxy acid products of arachidonate lipooxygenase in rabbit skin. Br. J. Pharmac., 74: 429-33, 1981.
36. HIRATA, F.; SCHIFFMAN, E.; VENKATASUBRAMANIAN, K.; SALOMON, D.; AXELROD, J. A phospholipase A₂ inhibitory protein in rabbit neutrophils induced by glucocorticoids. Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A., 77: 2533-6, 1980.
37. ISHIKAWA, H.; MORI, Y.; TSURUFUJI, S. The characteristic feature of glucocorticoids after local application with reference to leucocyte migration and protein exudation. Eur. J. Pharmac., 7: 201-5, 1969.
38. JOHNSON, L.K.; LONGENECKER, J.P.; BAXTER, J.D.; DALLMAN, M.F.; WIDMAIER, E.P.; EBERHARDT, N.L. Glucocorticoid action: a mechanism involving nuclear and non-nuclear pathway. Br. J. Derm., 107 (suppl. 23): 6-23, 1982.
39. KLEBANOFF, S.J. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. Ann. Intern. Med., 93: 480-9, 1980.
40. LENGFELDER, E. Can anti-inflammatory drugs act as scavengers of oxygen radicals? Ag. Actions, 15(1/2): 56, 1984.
41. LORENZETTI, B.B. & FERREIRA, S.H. Mode of analgesic action of dipyrrone: direct antagonism of inflammatory hyperalgesia. Eur. Jour. Pharmac., 114: 375-81, 1985.
42. LYNN, B. The detection of injury and tissue damage. In: WALL, P. & MELZACK, R. Pain. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1984. p. 19-33.

43. MALMSTEN, C.L.; PALMBLAD, J.; UDÉN, A.; RADMARK, O.; ENGSTEDT, L.; SAMUELSSON, B. Leukotriene B₄: a highly potent and stereospecific factor stimulating migration of polymorphonuclear leukocytes. Acta physiol. scand., 110: 449-51, 1980.
44. MATZNER, Y.; DREXLER, R.; LEVY, M. Effect of dipyron, acetylsalicylic acid and acetaminophen on human neutrophil chemotaxis. Eur. J. clin. Invest., 14(6): 440-3, 1984.
45. MONCADA, S.; FERREIRA, S.H.; VANE, J.R. Prostaglandins, aspirine-like drugs and the oedema of inflammation. Nature. Lond., 246: 217, 1973.
46. MUKHERJEE, S. & SUDHA, S. A controlled evaluation of orally administered aspirin, dipyron and placebo in patients with post-operative pain. Apud LORENZETTI, B.B. & FERREIRA, S.H. op. cit. ref. 41.
47. MUNIAIN, M.A.; MATA, R.; POZUELO, F.; RODRIGUEZ, C.; ROMERO, A.; TRUEBA, A. Circadian rhythmicity in neutrophil chemotaxis. J. Rheum., 15(6): 1044-5, 1988.
48. NIKOLOV, R.; NIKOLOVA, M.; PENEVA, M. Study of dipyron (analgin) antagonism toward certain pharmacological effects of prostaglandins E₂ and F_{2α}. Apud LORENZETTI, B.B. & FERREIRA, S.H. op. cit. ref. 41.

49. NIKOLOVA, M.; STEFANOVA, D.; NIKOLOV, R.; DALEVA, L.
Comparative pharmacological study of dipyron (Analgin)
 and acetylsalicylic acid: analgesic effects. Apud
 LORENZETTI, B.B. & FERREIRA, S.H. op. cit. ref. 41.
50. PALMBLAD, J. The role of granulocytes in inflammation.
Scand. J. Rheum., 13: 163-72, 1984.
51. PARENTE, L.; Di ROSA, M.; FLOWER, R.J.; GHIARA, P.; MELI, R.;
 PERSICO, P.; SALMON, J.A.; WOOD, J.N. Relationship
 between the anti-phospholipase and anti-inflammatory
 effect of glucocorticoid - induced proteins. Eur. J.
Pharmac., 99: 233-9, 1984.
52. PERPER, R.J.; SANDA, M.; CHINEA, G.; ORONSKY, A.L. Leukocyte
 chemotaxis in vivo. II. Analysis of the selective
 inhibition of neutrophil or mononuclear cell accumulation.
J. Lab. clin. Med., 84: 394-406, 1974.
53. PETROVA, L.; NIKOLOVA, M.; NIKOLOV, R.; STEFANOVA, L.
Dipyron and acetylsalicylic acid comparative
 pharmacological research. Antipyretic, anti-inflammatory
 and analgesic action. Apud LORENZETTI, B.B. & FERREIRA,
 S.H. op. cit. ref. 41.
54. SACKS, T.; MOLDOW, C.F.; CRADDOCK, P.R.; BOWERS, T.K.; JACOB,
 H.S. Oxygen radicals mediate endothelial cell damage by
 complement stimulated granulocytes. J. clin. Invest., 61:
 1161-7, 1978.
55. SAXENA, P.N. Effect of drugs on early inflammatory reaction.
Archs int. Pharmacodyn. Ther., 126: 228-37, 1960.

56. SCHAYER, R.M. Histamine and autonomous responses of the microcirculation: relationship the glucocorticoid action. Ann. N.Y. Acad. Sci., 116: 891-8, 1974.
57. SHEA, C. & MORSE, E.D. Inhibition of human neutrophil chemotaxis by corticosteroids. Ann. clin. Lab. Sci., 8: 30-3, 1978.
58. STOUGHTON, R.B. Vasoconstrictor activity and percutaneous absorption of glucocorticosteroids. Archs. Derm., 99: 753, 1969.
59. SUGIO, K. & TSURUFUJI, S. Mechanism of antiinflammatory action of glucocorticoids: re-evaluation of vascular constriction hypothesis. Br. J. Pharmac., 73: 605-8, 1981.
60. TAYLOR, G.W. & CLARKE, S.R. The leukotriene biosynthetic pathway: a target for pharmacological attack *Tips*. Amsterdam, Elsevier, 1986. p. 100-3.
61. THIEME, T.R.; MIRKOVICH, A.; MALONEY, P.; GOODWIN, D.A. In vivo and in vitro effects of dexamethasone on leukocyte migration in the rat adjuvant arthritis model. Inflammation, 6(4): 371-86, 1982.
62. THOMPSON, J. & van FURTH, R. The effect of glucocorticosteroids on the kinetics of mononuclear phagocytes. J. exp. Med., 131: 429-42, 1970.
63. TROWBRIDGE, H. Review of dental pain - histology and physiology. J. Endodont., 12: 445-52, 1986.

64. UTOH, J.; YAMAMOTO, T.; UTSUNOMIYA, T.; KAMBARA, T.; GOTO, H.; MIYAUCHI, Y. Effect of surgery on neutrophil functions, superoxide and leukotriene production. Br. J. Surg., 75: 682-5, 1988.
65. VIEIRA, H.; ARAÚJO, D.; FARIA, J. Respostas leucocitárias da dexametasona em cirurgia bucal. Revta. bras. Odont., 46(2): 47-52, 1989.
66. VINEGAR, R.; TRUAX, J.F.; SELPH, J.L. Some characteristics of the pleural mobilization of neutrophils produced by kaolin. Apud Di ROSA, M. op. cit. ref. 15.
67. VOLZ, M. & KELLNER, H.M. Kinetics and metabolism of pyrazolones (propyphenazone, aminopyrine and dipyroné). Br. J. clin. Pharmac., 10: 2995, 1980.
68. VON TOMEK, S.T. Neve betrachtungen uber angriffsund wirkingsweisender pyrazolonpreparate. Arzneimittel-Forsch., 231: 53, 1955.
69. WEDMORE, C.V. & WILLIAMS, T.J. Control of vascular permeability by polymorphonuclear leukocytes in inflammation. Nature, Lond., 289: 646-50, 1981.
70. WEISS, S.J.; YOUNG, J.; LOBUGLIO, A.F.; SLIVKA, A.; NIMEH, N.F. Role of hydrogen peroxide in neutrophilmediated destruction of cultured endothelial cells. J. clin. Invest., 68: 714-21, 1981.
71. WEITHMANN, K.U. & ALPERMANN, H.G. Biochemical and pharmacological effects of dipyroné and its metabolites in model systems related to arachidonic acid cascade. Drug. Res., 35(1): 947-52, 1985.

APÊNDICE

Composição e cuidados na preparação das soluções:

* OVOALBUMINA (solução de 10 mg/Kg)

Ovoalbumina..... 100 mg

Solução salina estéril (0,9%)..... 10 mg

OBS: Embora a ovoalbumina demore um pouco para ser dissolvida, é recomendável preparar a solução momentos antes da sua administração, evitando-se assim a contaminação da mesma.

* PBS (Phosphate Buffered Saline)

Preparar inicialmente uma solução de KH_2PO_4 (9,06 g em 1 litro de água destilada), e uma outra de K_2HPO_4 (11,6 g em 1 litro de água destilada). Tomar 20 ml da solução de KH_2PO_4 e 80 ml da solução de K_2HPO_4 , e acrescentar 1000 ml de solução de NaCl 15 M, proporcionando um volume final de 1100 ml. Separar 600 ml desta solução, guardando-a sob refrigeração. Com os 500 ml restantes, preparar a solução de PBS/Heparina.

* PBS/HEPARINA

PBS..... 500 ml

Heparina..... 0,5 ml

* TURK

Ácido acético glacial..... 30 ml

Água destilada q.s.p..... 100 ml

Cristal Violeta..... 0,05 g